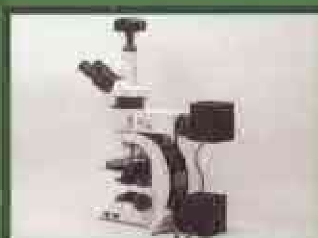
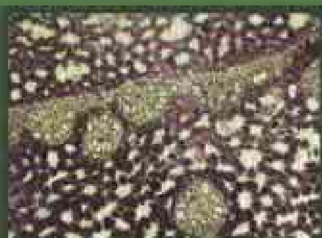
ANATOLIE NISTREANU ▪ TATIANA CALALB



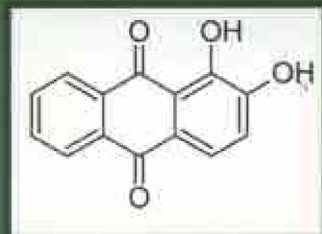




ANALIZA FARMACOGNOSTICĂ A PRODUSELOR VEGETALE MEDICINALE

COMPENDIU







CHIŞINĂU
2016

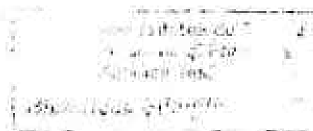
MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
NICOLAE TESTEMIȚANU

Catedra farmacognozie și botanică farmaceutică

Anatolie NISTREANU   Tatiana CALALB

Analiza farmacognostică a produselor vegetale medicinale

Compendiu pentru lucrări de laborator la farmacognozie



CHIȘINĂU

2016

CZU 615.322.07(075)
N 78

Aprobat la şedinţa Catedrei farmacognozie şi botanică farmaceutică (proces verbal nr. 06 din 24.11. 2014) şi Comisia Metodică pe discipline farmaceutice USMF *Nicolae Testemiţanu* (proces verbal nr. 06 din 03.12.2014)

Autori:

Anatolie Nistreanu, doctor în ştiinţe farmaceutice, profesor universitar, şef Catedră farmacognozie şi botanică farmaceutică

Tatiana Calalb, doctor habilitat în ştiinţe biologice, profesor universitar, Catedra farmacognozie şi botanică farmaceutică

Recenzenţi:

Vladimir Valica, doctor habilitat în ştiinţe farmaceutice, profesor universitar, şef Catedră chimie farmaceutică şi toxicologică

Silvia Oroian, doctor în ştiinţe biologice, profesor universitar, Facultatea farmacie, UMF Târgu Mureş, România

Redactor: *Silvia Donici*
Machetare computerizată: *Iulia Don*

Descrierea CIP a Camerei Naţionale a Cărţii

Nistreanu Anatolie; Calalb Tatiana

Analiza farmacognostică a produselor vegetale medicinale: Compendiu pentru lucrări de laborator la farmacognozie / Anatolie Nistreanu, Tatiana Calalb; Univ. de Stat de Medicină şi Farmacie „Nicolae Testemiţanu", Catedra farmacognozie şi botanică farmaceutică. – Chişinău: Medicina, 2016 (Tipogr. „Elan Poligraf"). – 316 p.

Bibliogr.: p. 310 (23 tit.). – 300 ex.

ISBN 978-9975-82-032-5

CUPRINS

ABREVIERI

CC – cromatografie pe coloană
CH – cromatografie pe hârtie
CLIP – cromatografie de lichide de înaltă performanţă
CSS – cromatografie în strat subţire
DAN – documentaţia analitică de normare
DNFH – dinitrofenilhidrazină
IR – lumină infraroşie
FR X – Farmacopeea Română, ediţia X
FS – Farmacopeea de stat
Ph. Eur – *European Pharmacopoeia* (Farmacopeea Europeană)
PM – plante medicinale
PV – produs vegetal
RMP – rezonanţa magnetică protonică
UV – lumină ultavioletă

INTRODUCERE

În ultimii ani, pe plan mondial, a sporit considerabil interesul față de preparatele de origine vegetală, aproximativ 70 % din populație tratând cele mai variate afecțiuni cu astfel de preparate.

Pentru a obține un medicament, care să răspundă cerințelor terapeutice urmărite, produsul vegetal trebuie să îndeplinească anumite condiții de calitate. Studierea produselor vegetale din acest punct de vedere presupune aplicarea unui ansamblu de procedee și determinări, cuprinse într-o metodă generală denumită analiză farmacognostică. În cadrul acestei metode se studiază minuțios un produs medicamentos natural din toate punctele de vedere: macroscopic, microscopic și chimic, ceea ce echivalează cu determinarea autenticității, purității și calității în vederea utilizării în medicină.

Însușirea metodelor moderne de investigație a produselor vegetale este necesară studenților nu numai în procesul de învățământ, dar și în activitatea practică ulterioară.

Produsele vegetale incluse în programa analitică la disciplina *Farmacognozie* sunt grupate după criteriul de apartenență a principiilor active la diverse structuri chimice în conformitate cu capitolele materialului de curs teoretic.

Pentru fiecare grupă de principii active sunt prezentate scurte definiții, clasificări, caracterele macroscopice și microscopice ale produselor vegetale, proprietățile fizico-chimice, metodele de izolare, analiză calitativă (reacții de identificare, cromatografie pe strat subțire) și dozare.

Metodele de analiză sunt preluate din diferite documente analitice de normare a produselor vegetale (farmacopei, specificații, instrucțiuni, atlase, monografii etc.).

Compendiul va fi suportul de bază pentru studenți la îndeplinirea lucrărilor practice care vor contribui la dezvoltarea abilităților de:

- identificare a produselor vegetale după caracterele macroscopice și microscopice cu ajutorul determinatoarelor;
- determinare a diferitor impurități în produsele vegetale;
- efectuare a analizei calitative și cantitative a principiilor active din produsele vegetale;
- formulare a concluziilor privind calitatea produselor vegetale în conformitate cu cerințele documentației analitice de normare în vigoare.

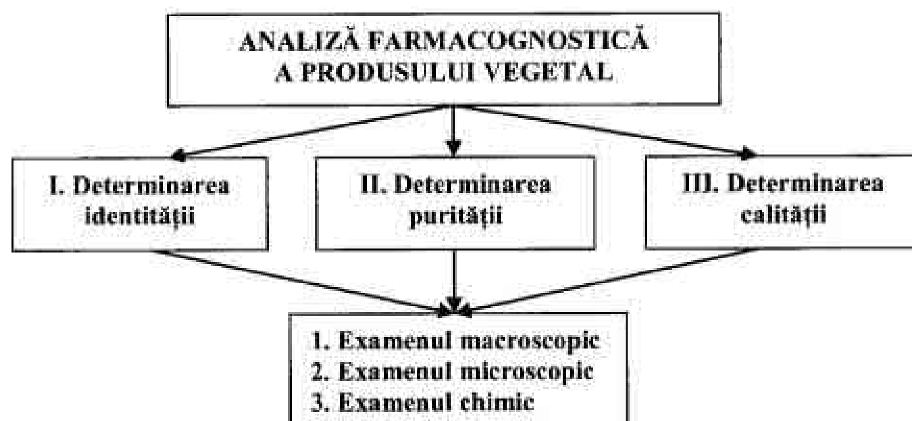
Compendiul este recomandat studenților Facultății *Farmacie* și tuturor celor interesați de studiul produselor vegetale pentru valorificarea florei medicinale.

Autorii aduc mulțumiri colegilor, care ne-au susținut și ajutat la elaborarea acestei lucrări, în special dnei Stela Grăjdieru, pentru contribuții deosebite la tehnoredactarea materialului informativ și ilustrativ. Exprimăm profundă recunoștință referenților științifici: Silvia Oroian, doctor în biologie, profesor universitar USF Târgu Mureș, și Vladimir Valica, doctor habilitat în științe farmaceutice, profesor universitar USMF „Nicolae Testemițanu”.

METODE GENERALE DE ANALIZĂ FARMACOGNOSTICĂ A PRODUSELOR VEGETALE

În vederea cunoașterii unui produs vegetal, acesta este supus analizei farmacognostice care cuprinde două compartimente distincte – analiza calitativă și analiza cantitativă. Analiza farmacognostică calitativă, a cărei finalitate este determinarea identității unui produs vegetal, cuprinde examenul macroscopic, examenul microscopic (prin aplicarea reacțiilor cito- și histochimice) și cel chimic.

Analiza farmacognostică cantitativă prevede determinarea purității produselor vegetale și a conținutului de principii active prin diferite metode: gravimetrică, volumetrică, colorimetrică, spectrofotometrică etc.



1.1. Determinarea identității produselor vegetale

1.1.1. Analiza macroscopică

Inițial, determinarea identității unui produs vegetal sau caracterizarea unui organ vegetal încă nestudiat, în scopul valorificării, se face prin examen macroscopic. Cu ajutorul examenului macroscopic se identifică și se precizează caracterele morfologice, care pot fi observate și evaluate cu ochiul liber sau cu ajutorul lupei. Frecvent se folosește microscopul stereoscopic, îndeosebi la identificarea modului de distribuire a perilor, glandelor secretoare etc.

Metoda de analiză macroscopică a produsului vegetal presupune cunoașterea profundă a morfologiei plantelor.

Tehnica analizei macroscopice constă în studierea cu ochiul liber sau cu lupa a aspectului exterior al produsului vegetal și în secțiune, măsurarea dimensiunilor părților componente, determinarea formei morfologice, efectuarea probelor organoleptice (culoarea, mirosul, gustul) și a reacțiilor microchimice de identificare.

Analiza macroscopică a produsului vegetal se efectuează conform documentației analitice de normare (DAN) în vigoare (monografii farmacopeice, monografii farmacopeice temporare, specificații ale producătorilor sau alte standarde), aprobate pentru

produsul vegetal. În conformitate cu această documentaţie, o cantitate nu prea mare de produs vegetal uscat se plasează pe o placă specială, sticlă mată sau hârtie lucioasă cu dimensiunile 40×50 cm. Produsul se examinează cu ochiul liber sau cu lupa sub diferite unghiuri şi poziţii în baza mai multor caracteristici.

Dimensiunile (lungimea şi grosimea) produsului vegetal se stabilesc cu ajutorul riglei gradate, iar în cazul organelor foarte mici (unele seminţe şi fructe) cu ajutorul hârtiei milimetrice. La aprecierea obiectivă a dimensiunilor produsului vegetal se execută mai multe măsurări. Pentru obiectele cu dimensiunile de 3 cm şi mai mult se fac 10-15 măsurări, pentru cele mai mici (până la 3 cm) – 20-30 măsurări, apoi se calculează valoarea medie.

Culoarea produsului vegetal se determină la lumina zilei atât la suprafaţă (în cazul frunzei – suprafaţa superioară şi inferioară, iar la scoarţă – suprafaţa internă şi externă), cât şi în fractură.

Mirosul produsului vegetal uscat se determină, de regulă, la fărâmiţare. Produsul vegetal fragil se fărâmiţează cu degetele, cel dur, fibros, gros în mojar sau se răzuie cu cuţitul.

Gustul produsului vegetal trebuie apreciat cu precauţie, rumegând în prealabil fragmente mici sau ţinând în cavitatea bucală un decoct de 10 % fără a-l înghiţi, clătind gura cu apă. În DAN gustul este indicat numai pentru produsul vegetal netoxic, de aceea se determină când suntem convinşi că acesta nu este otrăvitor.

Probele organoleptice au, de regulă, valoare diagnostică determinantă pentru majoritatea produselor vegetale.

Aceeaşi tehnică de analiză macroscopică se aplică şi la produsul vegetal umectat sau macerat.

Tehnica analizei macroscopice a produsului vegetal este efectuată în concordanţă cu tipul morfologic al organului, care se denumeşte în limba latină: **rizom – *rhizoma*, rădăcină – *radix*, bulb – *bulbus*, tubercul – *tuber*, scoarţă – *cortex*, boboc floral – *alabastra*, muguri – *gemmae*, frunză – *folium*, peţiol sau peduncul – *stipites*, floare – *flos*, partea aeriană – *herba*, lăstar vegetativ – *turiones*, fruct – *fructus*, sământă – *semen*.**

Frunze (*Folia*)

Acest produs vegetal în practica farmaceutică prezintă frunze uscate sau foliole separate ale frunzei compuse întregi sau fragmente. În cazul frunzelor compuse se colectează, în special, cele dezvoltate, cu sau fără rahis, conform necesităţilor.

Analiza macroscopică a frunzei se efectuează în baza indicilor morfologici:

- prezenţa sau absenţa peţiolului şi anexelor foliare;
- dimensiunile limbului (lungimea şi lăţimea) şi peţiolului (lungimea şi diametru);
- configuraţia limbului, bazei, apexului;
- tipul marginii şi nervaţiunii;
- aspectul suprafeţelor, culoarea şi consistenţa limbului;
- configuraţia peţiolului în secţiune transversală.

Se atrage atenţie la grosimea nervurilor, proeminenţa sau invaginaţia lor pe ambele suprafeţe ale frunzei (superioară şi inferioară).

Aceste particularităţi morfologice, în cazul analizei frunzelor mici şi coriacee, se observă mai bine pe materialul vegetal uscat. Frunzele de dimensiuni mari şi cu limbul subţire, în produsul vegetal uscat sunt mototolite, cutate, răsucite, de aceea necesită o

pregătire prealabilă cum ar fi înmuierea materialului într-o cameră umedă sau macerarea prin introducerea pentru câteva minute în apă fierbinte. Frunzele înmuiate se aranjează pe o placă de sticlă și se netezesc minuțios. Atât materialul uscat, cât și înmuiat se analizează cu lupa sau cu stereomicroscopul pentru a evidenția perii, glandele și modul lor de distribuire pe suprafețele limbului, prezența sau absența pețiolului și anexelor foliare.

Gustul se stabilește pe produsul vegetal uscat, dar mai frecvent pe cel umectat sau decoctul acestuia.

Flori (*Flores*)

În practica farmaceutică acest produs vegetal include flori separate sau inflorescențe (calatidiu, corimb, umbelă, capitul spic, racem) întregi și părțile lor componente (flori separate, bracte, involucru etc). Inițial este necesar de a stabili dacă produsul vegetal este alcătuit din flori complete sau incomplete, solitare sau inflorescențe. Analiza macroscopică se bazează pe urmatorii indici morfologici: tipul florii și inflorescenței; dimensiunile florii și inflorescenței; mirosul, culoarea și gustul care se determină pe materialul uscat. Pentru studierea structurii florii sau a inflorescenței materialul se înmoaie în prealabil în apă fierbinte timp de 5-10 min și se analizează fiecare piesă florală aparte. Astfel, piesele (elementele) florale (caliciul și sepalele aparte, corola și petalele separate, androceul și staminele, gineceul și carpelele) și ale inflorescenței (involucrul și bracteele) se etalează pe lamă sau placa de sticlă și se examinează cu lupa sau cu ajutorul stereomicroscopului. Pe produsul vegetal umectat, aranjat pe o placă de sticlă, se determină dimensiunile: diametrul florii sau inflorescenței, lungimea și lățimea elementelor florale. Se atrage atenția la prezența sau absența perilor și modul lor de distribuire pe sepale și bractei, prezența nectarinelor, papilelor pe petale, prezența sau absența perilor pe filamentul staminelor.

Părți aeriene (*Herba*)

Acest produs vegetal reprezintă părțile supraterestre înflorite (la diferite etape), uneori fructificate, și poate include fragmente de tulpini cu frunze și flori la diferite faze de dezvoltare, uneori cu fructe imature și mature ale plantelor erbacee uscate. Examenul macroscopic prevede descrierea morfologică a fiecărui organ în parte din produsul vegetal. Pe produsul vegetal întreg până la separarea organelor constituente, se va determina modul de aranjare a funzelor, tipul infloresceneței și diametrul ei. Se vor determina dimensiunile, culoarea, mirosul și gustul tuturor părților componente.

Analiza macroscopică se efectueaza în baza caracterelor morfologice ale fiecărui organ aparte: tulpina (tipul tulpinii în secțiune), frunza (prezența sau absența pețiolului și anexelor foliare; configurația limbului, bazei, apexului; tipul marginii și nervațiunii; aspectul suprafețelor și consistența limbului), floarea (tipul florii și inflorescenței); morfologia elementelor componente ale inflorescențelor (tipul bracteelor, involucrului și involucelului) și florii (tipul caliciului, corolei, androceului și gineceului), fructului (tipul fructului) etc. Cu ajutorul lupei se analizeaza gradul pubescenței și modul de distribuire a perilor pe fiecare organ din componența produsului vegetal (părți aeriene).

Pentru facilitarea indentificării particularităților morfologice ale organelor constituente, produsul vegetal se macerează, în prealabil, în apă fierbinte (5-10 min). Ulterior, părțile componente se aranjează pe o placă de sticlă și se analizează cu ochiul

liber și cu ajutorul lupei, aspectul exterior al organelor și în fractură, în special tulpina, pețiolul frunzei, receptaculul florii și, la necesitate, fructul.

Scoarțe (*Cortex*)

Sub denumirea acestui produs vegetal în practica farmaceutică se subînțelege partea exterioară a tulpinilor, ramurilor și a rădăcinilor arborilor și arbuștilor. Analiza macroscopică se face pe materialul uscat, determinând culoarea, forma și dimensiunile fragmentelor de scoarță. Deoarece calitatea acestui produs vegetal depinde și de vârsta arborelui, o atenție deosebită se atrage grosimii scoarței. În produsul vegetal uscat *Cortex*, scoarța poate fi de formă tubulară, de uluc, plăcuțe, fâșii de diferite dimensiuni. Suprafața exterioară a scoarței e acoperită cu suber. În cazul analizei macroscopice se determină culoarea suberului, caracterul suprafeței (netedă, fisurată și modul de fisurare, rugoasă, mată ori cu luciu), forma, culoarea și modul de distribuire a lenticelelor, prezența lichenilor etc. Se analizează suprafața interioară a scoarței (poate fi netedă sau muchiată și corelează cu apartenența speciei) și culoarea ei. Un rol important în determinarea identității scoarței revine caracterului fracturii transversale, care depinde de tipul elementelor mecanice – sclereide sau (și) sclerenchim fibros. În cazul prezenței sclereidelor (celulelor petrificate), scoarța va avea un aspect granulat. În scoarță, de regulă, prevalează sclerenchimul fibros liberian cu membrane celulozice ușor lignificate, dar se pot întâlni și fibre liberiene groase, cu membrane puternic lignificate. Pentru determinarea mirosului, scoarța uscată se fragmentează, iar la necesitate se răzuiește cu bisturiul.

Pentru identificarea categoriilor de compuși chimici (taninuri, flavonozide, celuloze, lignine, antracenozide etc.) din scoarță se aplică reacțiile chimice calitative pe suprafața interioară a scoarței, pe produsul obținut prin răzuire sau decoct.

Fructe (*Fructus*)

În practica farmaceutică acest produs vegetal poate include diferite tipuri de fructe simple, multiple, compuse și pseudofructe sau componentele lor. La analiza macroscopică a fructelor se atrage atenție la: formă, dimensiuni, culoare, miros și gust.

Fructul constă din pericarp și semințe. Pericapul la maturitate poate fi uscat (fructe uscate) sau cărnos (fructe suculente), dehiscent sau indehiscent. Fructele uscate de tip achenă, nucă, nuculă, cariopsă, foliculă, capsulă, păstaie, siliculă și silicvă se studiază pe material uscat. Fructele suculente (bacă, poamă, drupă etc.), deformate în timpul uscării, inițial se studiază pe material uscat, ulterior pe cel macerat (în apă fierbinte timp de 10-20 minute) sau fiert, pe care se va putea determina forma, dimensiunile, aspectul suprafeței și unele particularități morfologice specifice. Semințele din fruct neapărat se înlătură. În unele cazuri se recurge la analiza fructului în secțiune transversală pentru a evidenția numărul de camere seminale, prezența sau absența canalelor secretoare, cavităților secretoare și a elementelor mecanice (sclereide solitare sau în grup, fascicule de sclerenchim fibros). Fructele cu pericarpul moale se taie cu bisturiul fără prelucrarea prealabilă, cele uscate și cutate – după macerare, iar cele tari sunt debitate. La analiza macroscopică a fructelor se aplică lupa și stereomicroscopul pentru studiul reliefului suprafețelor, evidențierea coastelor, pubescenței și modului de distribuire a perilor, prezenței țepilor, cârligelor, modului de dehiscență etc.

Semințe (*Semina*)

În acest produs vegetal se pot întâlni semințe întregi, fragmentate sau cotiledoane aparte. Sămânța constă din tegument seminal, endosperm (la unele specii poate lipsi) și embrion. Pentru identificarea autenticității semințelor se determină forma, dimensiunile, culoarea (uni- sau policromă) și relieful tegumentului seminal (neted sau rugos, glabru sau pubescent, cu luciu, mat sau glutinos). Analizând tegumentul seminal cu ochiul liber și cu lupa se acordă atenție formațiunilor specifice: hilul (locul de fixare a seminței de funicul), micropilul (vizibil pe semințele mature sub forma unei protuberanțe – zona cea mai sensibilă a tegumentului seminal prin care străbate radicula în timpul germinării seminței), rafa (o mică proeminență longitudinală) și anexele tegumentului seminal (arilul, ariloidul, caruncului). Prezența sau absența acestora, modul de distribuire, culoarea sunt caractere specifice taxonomice.

Cu ajutorul lupei sau al stereomicroscopului sămânța se examinează în secțiune transversală pentru a evidenția: grosimea și particularitățile tegumentului, caracteristicile țesutului nutritiv (endosperm); forma, dimensiunile, numărul de cotiledoane și poziția embrionului.

În funcție de prezența sau absența endospermului, se deosebesc semințe exalbuminate (lipsite la maturitate de endosperm, dar cotiledoanele embrionului sunt mari și bogate în substanțe nutritive) la specii din familia Fabaceae. La speciile din familiile Brassicaceae, Asteraceae, Cucurbitaceae, Boraginaceae deși semințele exalbuminate dezvoltă cotiledoane mari și 2-3 straturi de endosperm. În funcție de natura chimică a substanțelor de rezervă, endospermul poate fi: amilaceu (familia Poaceae), oleaginos (familia Brassicaceae, Euphorbiaceae, Apiaceae), aleuronic (familia Poaceae, Apiaceae), coros, bogat în proteine și hemiceluloze (*Phoenix dactilifera*) sau polimeri ai arabinozei și xilozei (*Strychnos nux-vomica*). Forma embrionului este variabilă și constituie un caracter distinctiv de diferențiere a speciilor: embrion drept (*Ricinus communis*); curbat (*Nicotiana tabacum*); spiralat (*Solanum sp.*); circular sau arcuat – specii din familiile Caryophilaceae, Chenopodiaceae.

Rădăcini (*Radices*), rizomi (*Rhizomata*), tuberculi (*Tuber*), bulbi (*Bulbus*)

Rădăcinile, rizomii, tuberculii, bulbii sunt organe subterane ale plantei. În practica farmaceutică deosebim următoarele produse vegetale: rădăcini (frecvent fragmentate), rizomi (fragmentați), fragmente separate de rizomi și rădăcini (*Rhizomata et radices*); rizomi cu rădăcini (*Rhizomata cum radicibus*) (rizomi cu rădăcini neînlăturate), tuberculi (întregi sau fragmente).

Analiza macroscopică a organelor subterane se efectuează după următorii indici:

- forma;
- dimensiunile;
- relieful suprafeței;
- culoarea suprafeței și în fractură;
- mirosul (la frângerea organului);
- gustul.

Se acordă atenție analizei aspectului reliefului suprafeței rădăcinilor, rizomilor și tuberculilor (cu ochiul liber și cu lupa), care poate fi netedă sau rugoasă (cu fisuri și cute

longitudinale sau transversale), cu cicatrice ale frunzelor din anii precedenţi, cu asperităţi şi punctişoare – cicatrice ale tulpinilor şi rădăcinilor adventive uscate.

În cazul bulbilor şi bulbo-tuberculilor se analizează culoarea şi modul de exfoliere a tunicilor uscate. Se studiază şi caracterul frânturii rădăcinilor, rizomilor, tuberculilor (netedă, rugoasă, granuloasă, fibroasă, ghimpoasă etc.), determinat de prezenţa ţesuturilor de depozitare, elementelor mecanice (sclereide solitare sau în grup şi fibre sclerenchimatice celulozice sau lignificate), elementelor conducătoare liberiene şi lemnoase (tipul fasciculului conducător). Pentru identificarea specificului histologic al organului analizat (tipul elementelor histologice şi localizarea lor în organ) se recurge la studiul secţiunii transversale a organului analizat cu ajutorul lupei sau stereomicroscopului.

Un rol diagnostic important revine determinării caracterului dislocării elementelor conducătoare în secţiune transversală. Structura de tip fasciculat este caracteristică rizomilor şi rădăcinilor monocotiledonatelor (fasciculele sunt dispuse în cercuri sau haotic). Structura de tip nefasciculat (lemnul prezintă un cilindru continuu, separat de scoarţă, unde este localizat liberul, prin fâşia relativ îngustă de cambiu, iar razele medulare pot fi mai puţin pronunţate, penetrând suprafaţa tăieturii ca nişte fâşii radiale) este specifică rizomilor şi rădăcinilor plantelor dicotiledonate. Tipul fasciculului conducător poartă caracter diagnostic: colateral închis (monocotiledonate), concentric hadrocentric (ferigi), concentric leptocentric (lăcrămioară), colateral deschis (dicotiledonate, gimnosperme). În cazul analizei rădăcinilor şi rizomilor în secţiune transversală se atrage atenţe la numărul, dimensiunile şi modul de aranjare a fasciculelor conducătoare.

1.1.2. Analiza microscopică

Analiza microscopică a produsului vegetal joacă un rol determinant în activitatea practică a farmacistului de identificare a produsului vegetal. Tehnica analizei microscopice se selectează şi se aplică în concordanţă cu grupa morfologică în care se încadrează produsul vegetal analizat şi starea acestuia (intregru, fragmentat sau pulbere).

Analiza microscopică a produsului vegetal se efectuează şi prin aplicarea reacţiilor cito- şi histochimice, a căror rezultate (culoarea, modul de colorare, culoarea precipitatului, formarea cristalelor) permit evidenţierea, vizualizarea şi localizarea diferitor structuri şi substanţe în funcţie de natura chimică.

Tehnica microscopică aplicată la studierea produselor vegetale

Tehnica microscopică prevede pregătirea unui astfel de preparat pentru studierea microscopică, care ar pune în evidenţă caracteristicile structurale specifice organului analizat în corespundere cu cerinţele diagnosticării produsului vegetal. În pregătirea materialului biologic pentru analiză trebuie respectate următoarele etape: curăţarea, spălarea, uscarea, fixarea. La selectarea tehnicii microscopice se ţine cont de:

- forma de prezentare a organului (uscat, suculent, macerat, emulsionat, fragmentat, pulverizat etc.);
- tipul preparatului (superficial sau în secţiune);
- modul de aplicare a secţiunii (longitudinal, transversal, radiar, tangenţial etc.);
- tipul lichidului de încorporare a obiectului pe lama microscopică (apă, apă:glicerol, cloralhidrat etc.);
- tipul şi modul de aplicare a reagentului chimic pentru reacţia cito- şi histochimică.

Obiectul pentru studierea microscopică, pregătit conform particularităţilor specifice fiecărei grupe morfologice, trebuie să fie introdus într-un lichid de clarificare,

deoarece cele uscate au culoare închisă şi secţiunile sunt inaccesibile ochiului (nu se desluşesc). Gradul de vizibilitate al structurilor diferitor obiecte e determinat de proprietăţile optice ale micropreparatului şi ale lichidului de încorporare în care sunt examinate.

Scopul determinant al tehnicii microscopice aplicate constă în obţinerea micropreparatelor cu structuri histologice şi citologice vizibile sub microscop la diferite combinaţii optice ale ocularului şi obiectivului prin manevrarea modului de iluminare, aplicarea reagenţilor chimici pentru colorarea selectivă a structurilor şi compuşilor chimici, selectarea reuşită a lichidelor pentru clarificare şi încorporare a obiectului analizat.

Obiectul pentru analizat (pulbere, macerat sau secţiuni) se plasează într-o picătură de lichid de încorporare şi se acoperă atent cu lamela. Pentru evitarea formării bulelor de aer, lamela se aplică înclinat, atingând cu latura bazală lichidul, apoi acoperim obiectul. Bulele de aer formate se înlătură, lovind uşurel peste lamelă cu vârful neascuţit al acului de preparare sau încălzind foarte atent preparatul deasupra flăcării spirtierei. Dacă lichidul de încorporare nu umple tot spaţiul dintre lamă şi lamelă sau s-a evaporat la încălzirea preparatului, mai adaugăm câteva picături de lichid la marginea lamelei şi aşteptăm ca acesta să pătrundă sub ea. Excesul de lichid de încorporare se absoarbe cu ajutorul unei fâşii de hârtie de filtru. Lamela nu trebuie să plutească, dar să fie lipită de lamă, iar suprafaţa superioară să fie uscată.

Pentru administrarea unui reactiv chimic pe obiectul pregărit pentru analiza microscopică se aplică o tehnică specială. La marginea lamelei, se aplică 1-2 picături de reactiv chimic, iar în partea opusă, în apropierea lamelei, se plasează o fâşie îngustă de hârtie de filtru. Pe măsură ce aceasta va absorbi lichidul de sub lamelă, reactivul aplicat va pătrunde sub lamelă, contactând cu obiectul de analizat. În cazul aplicării unui reactiv vâscos, după picurare, marginea lamelei se ridică cu vârful acului de preparare pentru a permite contactul mai rapid şi eficient al reactivului cu obiectul. În caz de exces de colorare, obiectul prins în pensetă sau cu acul de preparare se spală cu mişcări rapide în apă pe sticlă de ceas, apoi se etalează în lichidul de încorporare pe lamă şi se acoperă cu lamela. Uneori, reactivul chimic se aplică direct pe lama cu obiectul de analizat pregătit, apoi obiectul se transferă pe altă lamă în lichidul de încorporare şi se acoperă cu lamela conform tehnicii. Pentru comoditate, frecvent se recurge la colorarea materialului pe sticlă de ceas, în capsule de evaporare sau în boxe speciale, apoi se transferă pe lamă în lichid de încorporare şi se acoperă cu lamela.

Pentru o clarificare mai bună a imaginii, preparatul cu obiectul de analizat se încălzeşte. Durata încălzirii depinde de tipul produsului vegetal. Preparatul se încălzeşte fiind acoperit cu o lamelă, la flacăra mică a spirtierei sau deasupra reşoului acoperit cu o placă de azbest. La încălzire preparatul se ţine înclinat, sub un unghi de 10-15° (astfel mai uşor sunt înlăturate bulele de aer din obiect). Uneori (depinde de obiect) preparatul poate fi încălzit până la o fierbere slabă, astfel sporind gradul de clarificare a obiectului.

Pregătirea materialului pentru examenul microscopic

Pentru prepararea micropreparatelor, produsul vegetal necesită o pregătire prealabilă prin umectare care poate fi: rece, prin fierbere, în vapori de apă, în camera umedă etc.

Metoda de umectare rece. Se aplică frecvent pentru pregătirea scoarţei, fructelor, seminţelor, organelor subterane şi frunzelor groase. Peste organul analizat, se

toarnă în prealabil un amestec de glicerol-apă-alcool (1:1:1). Obiectul se ține în acest amestec până la îmbibarea completă a țesuturilor cu lichid. Această pregătire a materialului durează, în funcție de grosimea obiectului și de particularitățile specifice ale țesuturilor, de la câteva zile până la câteva săptămâni. Este o metodă eficientă, deoarece în timpul umectării aerul iese complet din țesuturi și în acelaș timp se atinge o clarificare relativă a obiectului.

O metodă simplă de umectare rece, frecvent practicată, constă în următoarele: obiectele se introduc în apă pe 1-3 ore, apoi sunt transferate într-un amestec de glicerol-alcool (1:1) sau glicerol-apă-alcool (1:1:1) pentru 13 zile. Durata perioadei de înmuiere poate varia în funcție de specificul morfologic al obiectului. În caz de necesitate, pentru comprimarea țesuturilor, materialul biologic se introduce pe un timp oarecare în alcool-glicerol (2:1).

Pentru o înmuiere mai bună a materialului se utilizează camera umedă. Uneori se recurge la folosirea calotei din sticlă, aranjată pe o placă din sticlă șlefuită sau unsă cu grăsime, pe care se pun două cuve: una cu apă și alta cu produs vegetal. Produsul vegetal nu trebuie să fie în contact cu apa, ci să se umecteze de la vaporii din atmosfera camerei. Această metodă e de o durată mai mare, dar cu mult mai eficientă, întrucât se păstrează integritatea celulară, structurile și conținutul celular sunt protejate de spălare, sublimare, umflarea excesivă și mucilaginare. Durata umectării materialului prin această metodă este diferită și corelează cu particularitățile organului: subțiri și moi – 24 ore, groase și tari – 14-20 zile. În scopul evitării alterării (mucegăirii sau fermentării) produsului supus înmuierii, în apă se adaugă puțin fenol, aldehidă formică sau cloroform. Dezavantajul acestei metode constă în faptul că în materialul înmuiat poate rămâne aer, care ulterior trebuie să fie înlăturat prin procedee adiționale (spre exemplu, încălzirea la flacăra spirtierei).

Metoda de înmuiere fierbinte e mai simplă și mai rapidă comparativ cu umectarea la rece. Fragmente de produs vegetal cu lungimea de 1-2 cm se fierb în apă. Scoarța se fierbe timp de 35 min, organele subterane, în funcție de densitate și gradul de lignificare a țesuturilor – 10-30 min.

Fructele și semințele pot fi înmuiate prin tratarea cu aburi. Pentru aceasta obiectele se pun într-o bucată de tifon, se leagă și se atârnă deasupra vasului cu apă fierbândă astfel ca să nu se scufunde în apă. Tratarea cu aburi durează 15-30 min, în cazul obiectelor tari durata de tratare cu aburi se prelungește după necesitate.

Frunzele și florile nu necesită o prelucrare complicată și îndelungată. Pentru înmuiere și clarificare frunzele se fierb în soluție de bază alcalină de 3-5 % timp de circa 25 min în funcție de grosimea și consistența obiectului, dar nu mai mult. Ulterior, produsul vegetal fiert se trece în cutia Petri sau într-o capsulă de porțelan și se spală bine cu apă. Dezavantajul acestei metode este umflarea excesivă a membranelor celulare și spălarea conținutului celular.

Metode de macerare și izolare a țesuturilor. Pentru analiza microscopică a produsului vegetal din organe subterane groase și lignificate, fructe și semințe cu tegument seminal tare, tulpini și scoarțe groase sunt aplicate diferite metode de macerare.

- *Macerarea după Șulț.* Produsul vegetal fragmentat sau obținut prin răzuire se încălzește într-un amestec din 2 ml de acid azotic concentrat și 0,3 g de sarea lui Bertole până la formarea spumei, se mai lasă încă câteva minute, până la înălbirea fragmentelor, apoi se spală bine cu apă și se pun într-o capsulă de porțelan. O parte din fragmente se pun în glicerol pe lama microscopică și se

împart cu ajutorul acului de preparare în elemente separate. Atenție! Reacția se efectuează sub nișa de ventilare. Această metodă e comodă pentru studierea elementelor fasciculelor conducătoare și ale țesuturilor mecanice.

- *Macerea prin fierberea în soluție apoasă* de bază de 3-5 % timp de 30 min. Este binevenită pentru materialul vegetal fin și moale.
- *Macerarea prin încălzirea materialului în soluție de amoniac* de 25 % timp de 40 min. Este aplicată pentru obiectele biologice moi și fine.

Ultimile două metode de macerare sunt aplicate în cazul analizei produsului vegetal care dezvoltă structuri secretoare cum ar fi: canale secretoare, laticifere, cavități secretoare, idioblaste ș. a. Ele asigură păstrarea integrității membranelor subțiri și pereților celulari, ceea ce permite izolarea structurilor secretoare integre.

Pregătirea și analiza micropreparatelor

Tehnica de pregătire a micropreparatului din produs vegetal depinde de apartenența morfologică a organului și de felul prezentării lor:

- întreg – *in toto*;
- fragmentat – *concissum*;
- pulverizat – *pulveratum*.

Analiza microscopică se bazează pe cunoașterea citologiei și histologiei vegetale, fără de care nu pot fi indentificate particularitățile structurale ale organelor și evidențiate cele ce poartă caracter diagnostic în identificarea cu certitudine a taxonilor.

Frunze

Frunzele subțiri pot fi studiate la microscop pe preparate superficiale. Pentru pregătirea lor frunzele uscate sunt supuse procedurii de clarificare a țesuturilor prin fierbere în soluție de bază de 3-5 %. O clarificare bună a țesuturilor poate fi atinsă prin fierberea frunzelor în soluție de cloralhidrat de 30 % timp de 10-15 minute.

Frunzele mici se supun clarificării întregi, iar în cazul celor mari doar unele fragmente cu caracteristici morfolgice diagnostice: apexul, baza, marginea limbului și nervura principală. Frunzele întregi sau fragmentele de frunze clarificate și apoi spălate cu apă se etalează cu ajutorul acului de preparare pe lama microscopică într-o picătură de soluție de cloralhidrat, îndreptând minuțios toate cutele. Pentru examinarea suprafeței superioare și inferioare, fragmentul de lamină se împarte pe lama microscopică în două părți, iar una din ele se inversează. Obiectul se acoperă cu lamela și ușor se presează cu bagheta de sticlă. Pentru înlăturarea aerului, micropreparatul se încălzește atent la flacăra spirtierei și după răcire se examinează la microscop.

Preparatele clarificate din frunze cu lamina foarte subțire permit examinarea lor în toată grosimea. În cazul frunzelor cu lamina mai groasă este necesar de a strivi marginile laminei cu acul de preparare pentru desprinderea și eliberarea unor porțiuni ale epidermei de mezofil.

Pentru examenul microscopic al frunzelor coriacee se recurge la prepararea secțiunilor transversale prin limb. În acest scop frunzele uscate se macerează în apă, apoi se introduc într-un amestec de glicerol-apă-alcool (1:1:1). Un alt procedeu, mai rapid, de pregătire a materialului (frunzelor uscate) pentru obținerea secțiunilor constă în fierberea lor în soluție de cloralhidrat de 66 % timp de 10-20 min. Ambele procedee permit înmuierea frunzelor și clarificarea structurilor prin dizolvarea conținutului

celulelor. Pentru pregătirea secțiunilor transversale, un fragment al frunzei înmuiate (surplusul de lichid se înlătură cu ajutorul hârtiei de filtru) se plasează între două jumătăți ale măduvei de soc. Cu lama sau briciul se efectuează secțiuni perpendiculare axului lung al maduvei. Secțiunile mai reușite se plasează în glicerol sau în soluție de cloralhidrat conform tehnicii descrise mai sus și se examinează la microscop.

Micropreparatele din pulberea frunzelor se pregătesc în felul următor: pe lama microscopică se pune puțină pulbere, luată pe vârful acului de preparare (înmuiat, în prealabil, în amestec de glicerol-apă-alcool (1:1:1) sau soluție de cloralhidrat 66 %), în 2-3 picături de cloralhidrat. Se omogenizează cu vârful acului, apoi se acoperă cu lamela și se încălzește timp de 2-3 min pentru evacuarea bulelor de aer. După răcirea preparatului lamela se presează ușor, astfel ca particulele de pulbere să se distribuie uniform într-un strat subțire, neacoperindu-se una pe alta. Trebuie de urmărit ca suprafața lamelei sa rămână curată și sub ea să fie suficient lichid. La frunzele cu un conținut excesiv de clorofilă, clarificarea structurilor în soluție de cloralhidrat este mai dificilă, de aceea se recurge la alt reagent pentru clarificare – soluția de bază alcalină de 3 %. Întrucât la încălzirea unui astfel de preparat lichidul se evaporă mai repede, pentru a preveni uscarea acestuia, lângă lamelă se aplică 1-2 picături de glicerol, care asigură un nivel suficient de umiditate și preîntâmpină cristalizarea bazei.

La examenul microscopic al frunzei se vor evidenția particularitățile structurale ale ***epidermelor*** (superioară și inferioară) și ale ***mezofilului.***

Principalele elemente diagnostice ale frunzelor sunt: epiderma cu formațiunile specifice (tipurile de peri tectori, secretori și glandulari, glande); mezofilul (diferențiat – dorso-ventral asimetric sau izolateral și nediferențiat – omogen), tipul fasciculelor conducătoare, prezența sau absența elementelor mecanice (sclereide solitare sau în grup, colenchimul (angular, tabular sau lacunos), sclerenchimul și modul de distribuire ale acestora; prezența sau absența idioblastelor cu mucilagii, taninuri, uleiuri volatile, cristale de oxalat de calciu (tipul – cubice sau piramidale, aciculare/rafide, druze, sub formă de nisip), cavități secretoare (lizigene sau scizogene), canale secretoare, laticifere (articulate sau nearticulate) și modul de localizare.

Epiderma reprezintă un important țesut cu caracter diagnostic prin accesibilitatea analizei microscopice și multiplele caracteristici structurale. Deoarece epiderma frecvent dezvoltă formațiuni specifice, care corelează cu apartenența taxonomică, evidențierea lor facilitează stabilirea acesteea.

Caracteristicile celulelor epidermale: dimensiunile, conturul pereților celulari, modul de aranjare; grosimea, gradul de pătrundere și relieful cuticulei; prezența formațiunilor cerifere, tipul morfologic și modul de distribuire. Se recurge și la analiza comparativă a acestor caracteristici în epidermele superioară/inferioară. Dimensiunile celulelor epidermale variază de la taxon la taxon. Forma poligonală a celulelor, aranjate în rânduri, este specifică speciilor monocotiledonate, iar celulele lobate cu aranjare difuză – celor dicotiledonate, cu unele excepții. Pereții drepți ai celulelor epidermale sunt caracteristici pentru frunzele speciilor monocotiledonate, iar pereții sinuați – dicotiledonatelor.

Cuticula reprezintă un strat continuu de la suprafața celulelor epidermale, întreruptă doar de ostiolele stomatelor. Pentru a pune în evidență caracteristicile cuticulei se efectuiază secțiuni transversale prin frunză și se aplică diferiți reagenți chimici: Sudan III – colorează cutina în oranj, safranina (în etanol de 50 %) – în galben-oranj.

De regulă, cuticula este netedă, uneori ușor cutată. Grosimea și gradul de pătrundere a cuticulei printre celulele epidermale depinde de grupul ecologic din care face parte planta. Cuticula groasă este caracteristică plantelor montane de altitudine (strugurii-ursului, merișorul), plantelor din condiții aride (specii de aloe și agava), plantelor acvatice cu frunza plutitoare (nufărul-galben și alb), plantelor din zone umede și calde (specii de eucalipt) etc. Gradul de pătrundere a cuticulei variază de la extern – un strat deasupra celulelor epidermale, sau extern-intern – pătrunde 1/3-1/2 printre celulele epidermei, până la intern – pătrunde 3/4 sau total printre celulele epidermei. La una și aceeași specie gradul de pătrundere a cuticulei se schimbă în corelație cu condițiile de creștere.

Ceara se acumulează ca formațiuni foarte polimorfe (globuloase, lamelare, aciculare, prismatice sau cubice) pe cuticula epidermei. Modul de distribuire (pe toata suprafața limbului, la bază, zona mediană sau apex, de-a lungul nervurilor), densitatea și forma formațiunilor cerifere epicuticulare corelează cu taxonul și variază în funcție de condițiile pedoclimatice ale perioadei de vegetație (în anii secetoși, formațiunile cerifere sunt mai multe și mai dense).

Stomate. Tipul stomatelor (anizocitic, anomocitic, paracitic, diacitic etc.) și modul de distribuire pe epidermele frunzei (epi-, hipo- sau amfistomatic) sunt caracteristici constante ale familiilor și speciilor de plante, de aceea joacă un rol important în identificarea speciilor (*fig. 1*). Exemple: tip anizocitic – fam. Brassicaceae, Solanaceae, Rosaceae; anomocitic – fam. Ranunculaceae, Malvaceae, Papaveraceae, Scrophulariaceae, Cucurbitaceae, Rosaceae; diacitic – fam. Lamiaceae, Caryophilaceae, paracitic – fam. Fabaceae, Rubiaceae, actinocitic – fam. Myrtaceae etc.

Hidatode. Structuri specifice epidermale la care stomatele aerifere s-au transformat în stomate acvifere (au ostiola deschisă, camera substomatică plină cu apă, iar parenchimul de sub cameră lipsit de cloroplaste, este străbătut de terminațiile vaselor de lemn). Apa din camera substomatică se eliberează în exterior sub formă de picături – fenomenul de gutație. Hidatodele sunt dispuse la marginea limbului frunzei, de exemplu, specii din genurile *Fragaria, Primula*.

Perii *(trihomi)* sunt unul dintre elementele diagnostice de bază ale frunzelor grație diversității lor morfologice, structurale și fiziologice, care corelează cu apartenența taxonomică.

Perii tectori pot fi: mono- și pluricelulari (uni-, bi-, tri- și pluriserați); ramificați (stelați, pluriradiali, pluriterminali) și neramificați (liniari, conici, geniculari și sinuoși); vii și morți; permanenți, ușor caduci și caduci; moi, catifelați, aspri, ghimpoși; dimensiuni mici, medii și masivi (giganți); culoare argintie, brună, gri, mov etc. Suprafața perilor poate fi netedă, verucoasă, scuamoasă sau solzoasă în funcție de caracterul cuticulei ce acoperă perișorul.

Perii glandulari. Caracteristicile principale: dimensiunile și structura piciorușului (mono-, bi- sau pluricelular, lung sau scurt); dimensiunile (mici – se văd doar cu ajutorul microscopului, iar mari – cu ochiul liber sau cu lupa), structura glandei (mono-, bi-, tetra-, octa- sau pluricelulară, frecvent biserată), forma (sferică, ovală, de cupă sau de faclă), conținutul glandei (cu conținut incolor/pigmentat sau fără conținut). Se întâlnesc peri glandulari cu diferite combinații structurale ale piciorușului și glandei – cu rol determinant în identificarea produsului vegetal și a speciei: picioruș unicelular și glandă uni- sau bicelulară pentru specii din genul *Digitalis*; picioruș uni-

celular și glandă pluricelulară în formă de faclă la speciile genului *Plantago*; piciorus unicelular și glandă pluricelulară biseratǎ la specii din fam. Solanaceae (*Atropa belladonna, Hyoscyamus niger*) și din fam. Malvaceae (*Althaea officinalis, Malva sylvestris*); piciorus pluricelular uniserat și glanda unicelulară la *Primula veris*; piciorus bi- sau pluricelular biserat și glandă pluricelulară biserată specifici speciilor fam. Asteraceae (*Matricaria chamomilla, Artemisia absinthium, Calendula officinalis*); peri sesili cu glanda octocelulară, unde celulele secretoare sunt dispuse radiar, acoperite de cuticulă circulară, specifici speciilor fam. Lamiaceae (*Mentha piperita, Lavandula vera, Salvia officinalis, Origanum vulgare*).

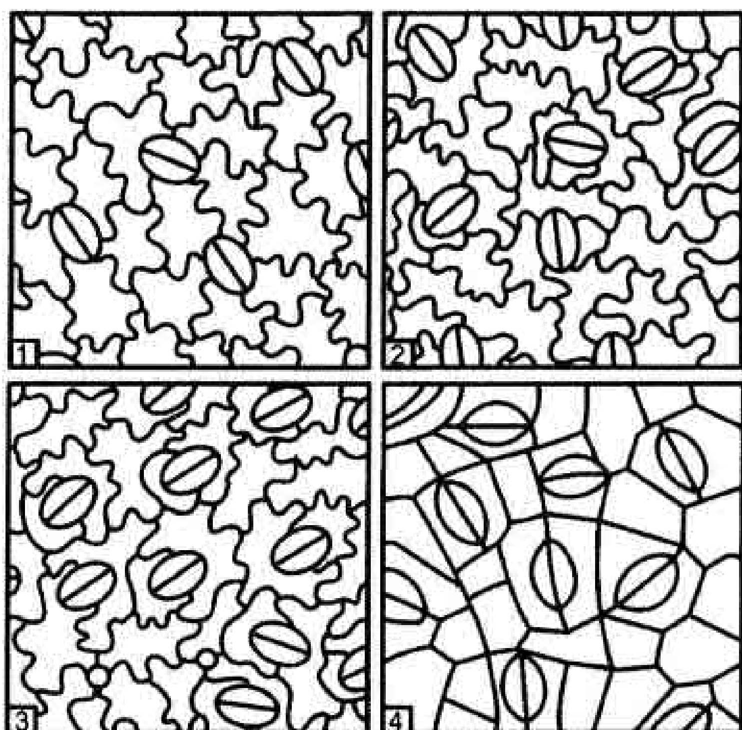


Fig. 1. **Tipuri de stomate (Ph Eur 6, FR X)**: *1* – tip anomocitic (stomata este înconjurată de un număr variabil de celule nediferențiate ale epidermei); *2* – tip anizocitic (stomata este înconjurată de trei celule anexe, dintre care una este mai mică decât celelalte două); *3* – tip diacitic (stomata este însoțită de două celule anexe paralele între ele și perpendiculare pe axul longitudinal al ostiolei); *4* – tip paracitic (stomata prezintă două sau mai multe celule anexe, paralele cu axul longitudinal al ostiolei)

Pentru identificarea cu certitudine a speciilor din aceeași familie prezintă importanță combinația de peri tectori și glandulari. De exemplu, pentru speciile fam. Lamiaceae – *Salvia officinalis, Mentha piperita* și *Lavandula vera*, sunt caracteristici perii glandulari octocelulari, dar la frunza de izmă-bună se mai observă perii tectori pluricelulari uniserați, geniculați, la frunza de salvie – perii tectori unicelulari denși, iar pentru frunza de levănțică – perii pluricelulari cu ramificații scurte.

Glandele secretoare sunt alcătuite dintr-un număr mult mai mare de celule secretoare decât glanda perilor glandulari și nu au picioruș. Se întâlnesc pe frunza de

smirdar *Rhododenron arboreum*, produc balsamuri și rezine, bracteele conurilor de hamei *Humulus lupus* – produc rezine.

Pungi secretoare. Prezente în mezofilul laminei frunzei, sunt de origine endogenă și diferite după modul de formare (schizogene și lizigene). Pungile scizogene (apărute în spațiile intercelulare) sunt specifice speciilor din familia *Hypericaceae* (cu conținut pigmentat sau incolor) și speciilor genului *Eucalyptus* cu picături de ulei volatil. Pungile lizigene cu conținut de ulei volatil (formate prin lizarea unui grup de celule) sunt caracteristice frunzelor speciilor genului *Citrus*.

Laticifere. Tuburi din celule izolate sau din mai multe celule dispuse cap la cap, cu sau fără pereți despățitori, care produc latex de diferite culori în corelație cu compoziția chimică: incolor la *Nerium oleander*, alb-lăptos – *Ficus carica*, alb-galben – *Cannabis sativa*, oranj – *Chelidonium majus*. Prezența laticiferelor reprezintă un criteriu diagnostic foarte informativ pentru identificarea la nivel de familie, gen și specie.

Celule secretoare. Sunt celule izolate (idioblaste) în mezofilul frunzei, care diferă de celelalte celule parenchimatice după formă și conținut, de aceea joacă un rol determinant în identificarea produsului vegetal și al speciei. În mezofilul frunzei de: dafin (*Laurus nobilis*) – cu ulei volatil, ceai (*Thea sinensis*) – cu conținut taninic, nalbă-mare (*Althaea officinalis*) – cu mucilagii.

Celulele oxalifere sau **cristalifere,** considerate de asemenea celulele secretoare, au o importanță majoră în identificarea cu certitudine a unui produs vegetal. Cel mai frecvent sunt întâlnite cristalele de oxalat de calciu, mai rar – cristalele de carbonat de calciu, dioxid de siliciu etc. Forma cristalelor de oxalat de calciu e variată și specifică fiecărei specii, gen sau chiar familii. Oxalatul de calciu se întâlnește sub diferite forme: cubice, prismatice, aciculare, rafide, druze, nisip cristalic (un conglomerat de cristale foarte mici). În unele plante, oxalatul de calciu formează cristale de o anumită formă, în altele – de mai multe (2-3) forme. De exemplu, în mezofilul frunzei de siminichie, plop-negru, mesteacăn – druze de oxalat de calciu, iar în teaca fasciculelor conducătoare – celule cu cristale solitare prismatice, ce formează teaca cristaligenă. În frunzele de măselăriță se pot găsi cristale solitare prismatice și cristale compuse în urma concreșterii a 2-3 cristale prismatice, formând druze sferocristalice, iar unele celule ale parenchimului, amplasate de-a lungul fasciculelor conducătoare mari, conțin nisip cristalic.

În frunzele unor plante se află litociste – celule ce conțin cistolite (urzică-mare). Corpul cistolitului se vizualizează ca o masă granuloasă, deoarece este impregnat cu carbonat de calciu.

În cazul frunzelor fragmentate sau pulverizate țesuturile fine parenchimatice ale mezofilului își pierd forma, iar unele elementele structurale – celulele secretoare, cavitățile și laticiferele, precum și structurile specifice ale epidermei – perii tectori și glandulari, stomatele, glandele, își mențin forma și structura, fiind ușor recunoscute în micropreparat.

În pulberea frunzelor deseori se întâlnesc mici fragmente ale limbului și ale pețiolului frunzei în secțiune transversală, pe care ușor se pot distinge țesuturile limbului frunzei: epiderma superioară, țesutul palisadic, țesutul lacunar, fasciculele conducătoare mici, epiderma inferioară.

Flori

Pentru pregătirea micropreparatelor din inflorescențe, flori sau fragmente de floare materialul biologioc se fierbe în prealabil timp de 2-3 minute în apă sau în soluție de hidroxid de sodiu de 1-2 %. După fierbere, materialul se spală minuțios cu apă. Florile separate sau fragmentele de flori (sepale/caliciu, petale/corola, stamine, carpele) se pun pe lamă într-o picătură de lichid de încorporare (apă, glicerol, soluție de cloralhidrat), se înlătură cutele cu acul de preparare și se acoperă cu o lamelă. Preparatul se încălzește pentru înlăturarea bulelor de aer. Pentru analiza microscopică a florii pot fi suficiente preparatele superficiale, doar în caz de necesitate se recurge la prepararea secțiunilor transversale sau longitudinale.

Se atribuie un rol important analizei epidermei pieselor florale (bracteelor, sepalelor, petalelor, receptaculului) deoarece pot avea diferite structuri distinctive: peri (tipul, culoarea, modul de distribuire), papile și glande secretoare, nectarine (forma – inelară, discoidală, ovoidală, cupuliformă) și localizarea – pe petale, inclusiv pinteni nectariferi, receptacul, stamine, ovar sau stil. Se acordă atenție cristalelor de oxalat de calciu (tipul morfologic și modul de distribuire).

Un caracter diagnostic important de identificare a produsului vegetal la nivel de familie, gen, specie este polenul, care ușor se depistează în anterele florii sau pe alte componente florale (petale, gineceu). Se atrage atenția la culoarea, dimensiunile, relieful suprafețelor și forma grăuncioarelor de polen.

În cazul produsului vegetal pulverizat, care se întâlnește relativ rar în practica farmacognostică, se analizează fragmente ale componentelor florale în care se evidențiază elementele structurale cu rol diagnostic: caracteristici ale celulelor epidermale (forma și dimensiunile celulelor, tipul perilor etc.); prezența și tipul elementelor mecanice în bractee, receptacul și caliciu; prezența și tipul cristalelor de oxalat de calciu; caracteristicile granulelor de polen.

Părți aeriene

Analiza microscopică a părților aeriene se efectuează, de regulă, prin examenul microscopic al frunzei. Din produsul vegetal fragmentat se selectează frunze sau bucățele de frunze din care se pregătesc preparate superficiale și se analizează conform tehnicii descrise pentru produsul vegetal *Folia*, evidențiind aceleași elemente cu caracter diagnostic.

În cazul părților aeriene reprezentate prin tulpini foliate sau fără frunze se vor efectua preparate superficiale din epiderma tulpinii sau din secțiunile transversale prin tulpină. Epiderma se jupoaie sau se înlătură cu bisturiul după fierberea preventivă a fragmentelor de tulpină în soluție de bază și se examinează preparatul superficial. Pentru pregătirea secțiunilor transversale, tulpina preventiv se macerează. Metodele de macerare a tulpinilor sunt aceleași ca și pentru frunze. În calitate de lichid de încorporare servește apa, glicerolul sau soluția de cloralhidrat. În preparatul microscopic al tulpinii se vor evidenția structuri cu caracter diagnostic: caracteristicile epidermei (grosimea și tipul cuticulei, tipul perilor și modul de distribuire, tipul stomatelor și modul de distribuire); elementele mecanice (tipul colenchimului și sclerenchimului – scleros sau fibros, modul de distribuire în scoarță și cilindrul central); idioblastele cu cristale, taninuri, mucilagii, uleiuri volatile; laticifere, canale și cavități secretoare; tipul fasciculului conducător și modul de aranjare etc.

La cercetarea părților aeriene tăiate (fără frunze), pentru pregătirea secțiunilor se aleg cele mai mari bucăți ale tulpinilor sau se pregătesc preparate „zdrobite". Pentru pregătirea preparatelor „zdrobite", fragmentele de tulpină se fierb în soluție de bază de 3-5 % până se înmoaie, se spală cu apă și se zdrobesc cu bisturiul pe lamă. Masa obținută se încorporează în glicerol sau în soluție de cloralhidrat, se acoperă cu o lamelă și se încălzește pentru înlăturarea bulelor de aer.

Micropreparatele din pulberea părților aeriene se pregătesc analog pulberii din frunze. Părticelele mai mari, adică fragmentele de tulpină groase, nu se folosesc, deoarece greu se clarifică și nu prezintă interes diagnostic.

În pulberea părților aeriene în afară de fragmente de frunze se vor găsi fragmente de tulpini, flori, bractee, în unele cazuri de fructe și semințe. Fragmentele de tulpini se vor evidenția prin forma celulelor poligonale sau dreptunghiulare extinse de-a lungul axei, fragmente de fascicule conducătoare neramificate (spre deosebire de cele ramificate ale frunzei), elemente de colenchim și sclerenchim fibros. Florile pulverizate se vor recunoaște prin caracteristicile grăuncioarelor de polen, uneori prin elementele structurale ale sepalelor, receptaculului sau ale petalelor. În pulberea părților aeriene, fructele se vor identifica prin caracteristicile epidermei, care bine își păstrează forma celulelor, elementelor structurale ale mezo- și endocarpului (cristale de oxalat de calciu, sclereide solitare sau grupate). În cazul fructelor mature, în părțile aeriene vor putea fi și elemente structurale ale semințci – fragmente de spermodermă, de endosperm, granule de amidon, aleuronă sau picături de ulei gras.

Scoarța

Examenul microscopic al scoarței se realizează frecvent pe secțiuni transversale, mai rar, longitudinale. Preventiv fragmentele de scoarță se înmoaie în apă, apoi se trec în amestecul de glicerol-apă-alcool (1:1:1). Fragmentele de scoarță înmuiate se îndreaptă cu bisturiul, determinând orientarea suprafaței față de axul tulpinii pentru prepararea secțiunilor transversale/longitudinale cu ajutorul briciului sau lamei. Secțiunile căpătate se includ în soluția de cloralhidrat, apă sau glicerol, se acoperă cu o lamelă și se încălzesc pentru clarificare și înlăturarea bulelor de aer. În caz de necesitate, pe preparate se aplică reactivi chimici specifici pentru a pune în evidență anumite structuri histoanatomice sau grupe de compuși chimici naturali.

Examenul microscopic al secțiunilor din scoarță se bazează pe următorii indici structurali:

- culoarea, grosimea și particularitățile structurale ale suberului;
- prezența/absența colenchimului;
- tipul colenchimului (angular, tabular sau lacunar);
- corelația grosimii scoarței primare/secundare;
- frecvența, configurația și dimensiunile razelor medulare;
- prezența/absența elementelor sclerenchimatice, tipul (fibre liberiene, sclereide) și modul de distribuire în scoarță (în grup/soltar);
- prezența/absența celulelor cristalifere (tipul cristalelor și modul de distribuire);
- prezența/absența celulelor taninifere, amilifere;
- prezența/absența laticiferelor, cavităților și canalelor secretoare.

Un rol decisiv la examinarea microscopică a scoarței revine reacțiilor cito- și histochimice, prin intermediul cărora sunt puse în evidență grupele de compuși chimici naturali. În scoarța pulverizată pot fi identificate următoarele elemente structurale:

- fragmente de suber (de menționat culoarea);
- elemente mecanice: sclereide separate, mai rar în grup; fibre sclerenchimatice liberiene – frecvent în grup;
- fragmente de laticifere sau canale secretoare;
- cristale de oxalat de calciu (diferite tipuri).

Fructe și semințe

Pentru examenul microscopic, fructele și semințele sunt în prealabil înmuiate în camera umedă. Analiza microscopică se realizează, de regulă, pe secțiuni transversale, obținute din partea mediană a fructului și seminței, care vor conține toate elementele structurale specifice acestora.

Pe secțiunile obținute din partea apicală/bazală a fructului sau seminței, aproape toate elementele sunt amplasate oblic, ceea ce complică studierea structurii lor, unele pot lipsi.

În cazul fructelor și semințelor de dimensiuni mici este necesar un bloc-suport de parafină. Se pregătesc blocuri de parafină în formă de cub cu mărimea de 1,0-1,5 cm. În centrul uneia din laturile blocului se formează o adâncitură cu capătul fierbinte al acului de preparare, unde se va introduce fructul sau sămânța în poziție necesară: verticală – pentru obținerea secțiunilor transversale, orizontală – pentru cele longitudinale.

După întărirea parafinei se efectuează secțiuni, trasând parafina împreună cu obiectul inclus în ea în talașe subțiri. Cu acul de preparare muiat în glicerol se selectează secțiunile cele mai subțiri ale obiectului, care se montează pe lama micropreparatului.

Pentru obiectele cu țesuturi moi se va utiliza măduva de soc sau suberul catifelat. În acest caz obiectul se plasează între două jumătăți de soc sau suber și se execută secțiuni conform tehnicii clasice.

În calitate de lichid de includere cel mai frecvent e folosită soluția de cloralhidrat.

Cele mai importamte structuri cu caracter diagnostic în pericarpul fructelor sunt:

- epiderma (forma și dimensiunile celulelor epidermale; grosimea și gradul de pătrundere a cuticulei; prezența/absența perilor, tipul; prezența/absența formațiunilor cerifere);
- prezența canalelor secretoare (numărul, modul de aranjare – caracter distinctiv diagnostic pentru familia Apiaceae);
- prezența/absența sclereidelor și modul de dislocare (solitare, în grup, fâșii neîntrerupte) și locul (mezo- sau endocarp);
- prezența/absența celulelor clistalifere, amilifere, taninifere etc.

La examinarea microscopică a pulberii din fructe, însemnătate diagnostică au elementele mecanice (fibre liberiene, sclereide), fragmentele canalelor secretoare (familia Apiaceae) și cavitățile secretoare (familia Rutaceae), perilor și altor formațiuni epidermice (stomate, lenticele, ceara, cuticula).

Cel mai frecvent se recurge la reacții chimice pentru identificarea elementelor lignificate, amidonului, aleuronei, uleiurilor volatile și grase.

Examenul microscopic al semințelor include: caracteristicile structurale ale componentelor seminței – tegumentul seminal (grosimea, aspectul suprafeței, numărul de straturi), țesutul nutritiv de rezervă (endospem, perisperm), embrionul (dimensiunile, forma, poziția), și coraportul dintre ele. Se atrage atenție la prezența/absența elementelor mecanice (sclereide, fibre) și a incluziunilor ergastice amilacee, proteice, oleagi-

noase etc. Pentru identificarea naturii chimice a țesutului nutritiv se aplică reacții chimice specifice.

În pulberea semințelor cele mai caracteristice elemente structurale sunt: straturile tegumentului seminței, în special stratul mecanic și pigmentar care doar în unele cazuri sunt prezente ca elemente separate. Frecvent în pulbere se întâlnesc îmbinări din două sau trei straturi de tegument seminal, care reprezintă un caracter diagnostic.

Rădăcini, rizomi și alte organe subterane

Pentru studiul microscopic al organelor subterane se pregătesc secțiuni transversale (mai rar, longitudinale). În acest scop sunt recomandate diferite metode de înmuiere rece, deoarece amidonul este important pentru diagnosticarea acestori tipuri de produse vegetale. Pentru determinarea modului de aranjare a țesuturilor conducătoare (fasciculelor conducătoare) sunt necesare secțiuni transversale prin rădăcini sau rizomi, relativ nu prea subțiri, deoarece sunt studiate la mărire mică; pentru studierea detaliată a structurii lor anatomice se practică obținerea secțiunilor subțiri, care permit evidențierea anumitor structuri cito- și histologice specifice la mărire mare. Ele se fac pe porținuni nu prea mari, însă în așa fel ca să treacă prin toate zonele histologice ale rădacinii (sau rizomului), începând de la exterior (țesutul de apărare) și terminând cu partea centrală. Inițial pe secțiuni se determină prezența amidonului, forma, tipul și dimensiunile granulelor de amidon. Apoi preparatul se încălzește până la clarificare, studiind particularitățile specifice ale structurii anatomice. În calitate de lichid de includere mai frecvent se utilizează soluția de cloralhidrat, mai rar – glicerolul sau apa (pentru studierea amidonului). Pentru identificarea anumitor substanțe chimice sau structuri specifice, preparatele se pregătesc în reactivi chimici corespunzători. În cazul examenului microscopic al produsului vegetal tăiat se pregătesc preparate „zdrobite".

Studierea pulberilor rădăcinilor și rizomilor începe, de regulă, cu identificarea substanței nutritive de rezervă prin analiza preparatului în apă, soluție Lugol (amidonul) ori în soluție de sudan III (uleiul gras). Pentru studierea fragmentelor separate de țesuturi cu rol diagnostic se pregătește preparatul în soluție de cloralhidrat și se studiază după încalzire (clarificare).

La studierea rădăcinilor și rizomilor se atrage atenție la tipul structurii anatomice (structura primară sau secundară), modul dispunerii țesutului conducător (structura de tip fasciculat sau nefasciculat). În structura de tip fasciculat se va determina tipul fasciculelor conducătoare (deschise sau închise; colaterale, bicolaterale sau concentrice), caracterul dispunerii lor, în cazul tipului nefasciculat – caracterul lemnului, amplasarea și lățimea vaselor. O însemnătate diagnostică importantă revine și caracterului îngroșării secundare a pereților traheelor și traheidelor (inelate, spiralate, reticulate, punctate – cu pori simpli sau areolati), care poate fi mai bine observat pe secțiunile longitudinale. Elementele conducătoare ale liberului nu joacă, de regulă, rol important în examenul microscopic al rădăcinilor, rizomilor și tuberculilor, deoarece nu dispun de particularități specifice în identificarea acestora. Doar la unele plante tuburile ciuruite suferă, cu vârsta, schimbări, fiind supuse obliterării (pierderea funcției țesutului conducător) și transformându-se într-o masă neuniformă, turtită (lemn-dulce, dracilă). În acest caz, prezența liberului deformat (obliterat) poartă caracter diagnostic pentru produsul vegetal dat. Plantele unor familii (Solanaceae, Gentianaceae, Apocynaceae) se caracterizează prin prezența liberului adăugător. De exemplu, în rădăcinile de mătrăgună se întâlnesc sectoare de liber adăugător printre celulele lemnoase, în rizomi de

iută – în măduvă. Aceste exemple constituie o excepție a modului de amplasare a țesuturilor conducătoare și de aceea au importanță diagnostică.

Ținând cont de faptul că nu se prea observă pe secțiunile transversale (diferă de parenchimul înconjurător doar prin mărime mai mică), tuburile ciuruite nu au importanță diagnostică decisivă la determinarea produsului vegetal. În rădăcinile și rizomii multor plante sunt prezente elemente mecanice (fibre sclerenchimatice, mai rar sclereide). Forma și caracterul dispunerii lor joacă un rol important în determinarea produsului vegetal.

La identificarea produselor vegetale subterane se ține cont și de prezența anumitor tipuri de structuri secretoare cu rol diagnostic. În unele rădăcini și rizomi pot fi prezente: laticiferele (iuta, păpădia); cavitățile secretoare cu uleiuri volatile sau rezine (iarbă-mare, ginseng, leuzee); idioblastele cu mucilagii (nalbă-mare) sau uleiri volatile (odolean). Se atrage atenție la tipul structurii secretoare și modul de dispunere a acesteea printre țesuturile rădăcinii sau rizomului.

În parenchimul de depozitare al rădăcinilor, rizomilor, tuberculilor pot fi prezente diferite tipuri de substanțe nutritive de rezervă. Spre exemplu, amidonul la plantele familiei Malvaceae, inulina – la familia Asteraceae, uleiul gras – la gențiană, scara-domnului etc. Substanțele nutritive de rezervă au o mare importanță la determinarea rădăcinilor, rizomilor, tuberculilor, în special amidonul, deoarece dimensiunile, tipul și forma granulelor de amidon (simple – sferice, ovale, poligonale, compuse sau semi-compuse) sunt caracteristice pentru fiecare specie de plante. Organele subterane ale plantei pot conține cristale de oxalat de calciu (tipul, dimensiunile, modul de distribuire) cu rol diagnostic decisiv. La determinarea rădăcinilor, rizomilor, tuberculilor la microscop se aplică pe larg reacțiile histochimice în scopul descoperirii unor sau altor principii active (mucilagii, ulei volatil, alcaloizi, heterozide, substanțe tanante).

La analiza pulberii de rădăcini, rizomi și tuberculi importanță diagnostică au fragmentele de trahei și traheide (în pulbere se observă clar caracterul îngroșării secundare a pereților vaselor conducătoare), elementele mecanice (fibre sclerenchimatice, sclereide), cristalele de oxalat de calciu, granulele de amidon (sau alte substanțe nutritive de rezervă), în unele produse vegetale – laticiferele, cavitățile și celulele secretoare și unii compuși chimici, identificați prin aplicarea reacțiilor chimice corespunzătoare.

Lichide de includere și agenți de clarificare utilizați la analiza microscopică

Deseori, observarea și identificarea anumitor structuri anatomice în produsul vegetal este foarte dificilă din cauza abundenței conținutului celular și grosimii peretelui celular. În acest scop se practică clarificarea obiectelor biologice de analizat (secțiunilor) prin aplicarea diferitor agenți de clarificare, care duc la o anumită claritate a structurilor. Aceasta se obține prin acțiunea chimică a agentului de clarificare ce determină decolorarea substanțelor inutile și dizolvarea amidonului, proteinelor, clorofilelor, rezinelor și uleiurilor volatile (nu dizolvă cristalele de oxalat de calciu).

La asigurarea clarificării contribuie și acțiunea fizică – aplicând substanțele chimic inerte, optic active, care în urma creării unor condiții anumite pentru trecerea luminii prin preparat contribuie la sporirea vizibilității detaliilor obiectului. Obiectul este văzut cu atât mai clar, cu cât mai mult diferă după refractabilitatea luminii de lichidul, în care este inclus.

Structura celulelor cu pereţii celulari subţiri şi conţinutul transparent se vizualizează mai bine la includerea obiectului în apă, dar nu în glicerol. În cazul obiectului de analizat mai puţin clarificat se recurge la includerea acestuia în glicerol (lichid cu indicele refractibilităţii mai mare), care va asigura o transparenţă mai bună.

Pentru clarificarea preparatelor se folosesc diferite lichide numite lichide de clarificare, în funcţie vârsta, de natura obiectului, densitatea ţesuturilor, structura şi conţinutul celulelor.

Apa, ca lichid neutru pentru includerea obiectelor de analizat, nu schimbă forma şi mărimea celulelor, structura şi coloraţia ţesuturilor, iar granulele de amidon se văd bine. Unele inconveniente: granulele aleuronice se descompun, uleiul gras formează picături mari, mucilagiile se dizolvă, iar ţesuturile rămân întunecate şi neclare.

Glicerolul se foloseşte diluat cu apă (1:1), deoarece nediluat absoarbe din ţesuturi apa, ceea ce duce la zbârcirea şi deformarea obiectului de analizat. Glicerolul nediluat sau în amestec cu alcool (în părţi egale) este utilizat numai pentru incluziunile ce se dizolvă în apă (de exemplu, mucilagii). Glicerolul este, ca şi apa, lichid indiferent, care împiedică uscarea ţesuturilor mult timp. În afară de aceasta, glicerolul posedă şi proprietăţi slabe de clarificare: la acţiunea îndelungată a glicerolului ţesuturile devin mai transparente.

Cloralhidratul este cel mai eficient lichid de clarificare. Pătrunde uşor în ţesuturi, înlăturând aerul; granulele de amidon se umflă şi se extind; uleiurile grase şi volatile se contopesc în picături mari, apoi treptat se dizolvă; clorofilele, substanţele albuminoase şi alte incluziuni se distrug, iar ţesuturile colorate devin mai deschise; cristalele rămân fără schimbări. Obiectul introdus în soluţia de cloralhidrat, de regulă se încălzeşte, uneori se lasă puţin să fiarbă, aceasta intensifică şi accelerează acţiunea reactivului. O deficienţă a cloralhidratului este considerată acţiunea lui deformatoare asupra ţesuturilor ca rezultat al umflării excesive a membranelor şi pereţilor celulari. Se foloseşte sub formă de soluţie: 20 părţi de cloralhidrat se dizolvă prin încălzire în 5 părţi de glicerol astfel ca cloralhidratul să nu se cristalizeze.

Baza alcalină posedă calităţi clarificatoare pronunţate. Se foloseşte în soluţii apoase. Concentraţia şi durata acţiunii e determinată de proprietăţile obiectului biologic. De regulă, se aplică soluţii de 3-5 %, mai rar de 10-15 %. Granulele de amidon se umflă şi se transformă în clei de amidon; la acţiunea îndelungată a bazei sau la încălzirea preparatului în acest reactiv grăsimile saponifică, substanţele albuminoase se dizolvă, ţesuturile întunecate se clarifică. În soluţia de bază membranele celulelor se umflă puternic, se rup şi ulterior este dificil de a determina dimensiunile lor reale. Mai frecvent utilizate sunt baza de potasiu şi baza de sodiu. Mai rar se aplică soluţia de amoniac, deoarece ea provoacă umflarea excesivă a membranelor celulare.

Frecvent se utilizează peroxidul de hidrogen de 3 %, deoarece concentraţiile mai mari acţionează şi ca reactiv de macerare, iar cele mai mici nu asigură clarificarea preparatului.

Aparate optice şi instrumente auxiliare

La efectuarea analizei macro- şi microscopice a produsului vegetal sunt utilizate aparate optice şi instrumente auxiliare: lupa, microscopul optic, stereomicroscopul, micrometrul, aparatul de desenat etc.

Lupa

Lupa este instrumentul optic utilizat pentru observarea detaliilor morfologice care nu pot fi percepute cu ochiul liber: relieful suprafețelor externe și interne ale obiectului și a fracturilor; determinarea caracterului pubescenței; stabilirea prezenței glandelor eterooleaginoase; examinarea obiectelor mici – semințelor, componentelor florale, fructelor (exemplu familia *Apiaceae*) etc. Întrucât examenul unui specimen biologic cu ajutorul lupei nu necesită, în general, prelucrarea acestuia, poate fi realizat în laborator și în teren.

Lupa este alcătuită dintr-o lentilă convergentă cu diferite capacități de mărire, care permite mărirea obiectului de analizat, montată pe un suport circular. Obiectul studiat trebuie să se afle în planul focal din față. Focalizarea ariei de interes se face deplasând lupa și specimenul unul în raport cu celălalt. Lupele pot fi prevăzute cu mâner, suport (stativ) sau alte accesorii, care să-i faciliteze utilizarea mai eficientă.

Microscopul optic (fotonic)

Microscopul este instrumentul optic care utilizează mai multe lentile pentru a obține imagini marite, cu detalii fine, ale obiectelor prea mici, inaccesibile pentru examinare cu ochiul liber. Cu ajutorul microscopului se obține imaginea mărită a obiectelor mici, necesară pentru studierea structurii histoanatomice a organelor plantelor.

De la descoperire și până în prezent microscopul optic a suferit multiple transformări care i-au sporit capacitățile de mărire și rezoluție. Microscopul optic *Miko (fig. 2)* este instrumentul optic de bază la îndeplinirea lucrărilor de laborator și efectuarea studiilor științifice.

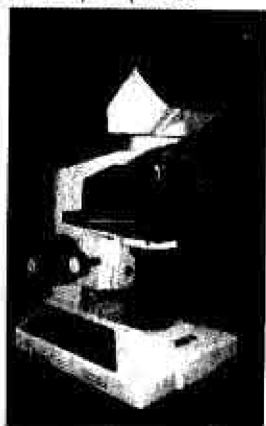


Fig. **2. Microscopul optic** ***Miko***

Microscopul optic este alcătuit din două părți: partea mecanică, cu rol de susținere a lentilelor și de facilitare a observațiilor, și partea optică, care realizează mărirea imaginii obiectului analizat.

Partea mecanică ***(montura)*** cuprinde *talpa, brațul, platina (măsuța port-obiect), tubul microscopului cu revolverul, macro- și microvizele* pentru ajustarea imaginii.

Talpa, numită și *stativul microscopului*, este metalică, cu rol de suport al celorlalte componente, și conferă stabilitate microscopului. Pe latura dreaptă a talpei microscopului găsim un buton, care asigură contactul electric, și o manivelă, care prin mișcările de rotație reglează intensitatea luminii necesară pentru vizualizarea și examinarea specimenului. În orificiul din partea centrală a tălpii este montat *dispozitivul de iluminare artificială*. În partea posterioară a tălpii este fixat conductorul electric de conexiune la sursa electrică.

Pe talpă se articulează *brațul (mânerul)* microscopului, astfel încât tubul optic să se poată înclina convenabil studiului la microscop. Împreună cu talpa, mânerul servește la transferarea microscopului dintr-un loc în altul (microscopul se ține de talpă și braț). În partea bazală, de ambele părți ale mânerului, sunt fixate macro- și microvizele.

Platina (măsuța port-obiect) este un suport metalic de formă dreptunghiulară, cu un orificiu circular în partea centrală, care asigură trecerea razelor de lumină de la sursa de iluminat, aflată sub platină, până la preparatul microscopic de examinat. Platina se poate mișca în plan orizontal (din partea posterioară spre exterioară) cu ajutorul manivelei respective (șurubul superior), montată în partea dreaptă-față sub măsuță.

Preparatul se fixează pe platină cu ajutorul clamei metalice (cavaler sau valet) manevrabilă, montată pe partea stângă a platinei. Poziția preparatului de examinat poate fi schimbată pe orizontală (de la stânga spre dreapta) cu ajutorul manivelei (șurubul inferior) aflat la dreapta-față sub măsuță. Pe latura stângă și posterioară măsuța port-obiect este prevăzută cu două rigle metalice numite *verniere* sau *scale Vernier* (după numele inventatorului Pierre Vernier), care permit realizarea anumitor măsurări.

Tubul microscopului, numit și *tub optic*, este piesa metalică care susține partea optică a microscopului (ocularele și obiectivele), adaptată la mânerul stativului printr-un manșon. În cazul microscopul binocular *Miko*, în manșon sunt montate 2 tuburi microscopice. În partea superioară a tuburilor se află lentilele oculare, iar în partea inferioară revolverul microscopului. Acesta este alcătuit din *două calote* suprapuse: una *superioară* fixă, numită *calotă de protecție*, și alta *inferioară*, mobilă, cu 4 locusuri în care sunt montate lentilele obiective, cu diferite capacități de mărire. Revolverul permite folosirea succesivă a obiectivelor, de la cea mai mică capacitate de mărire x4 până la cea mai mare – x100, prin rotirea calotei inferioare și aducerea lor în axul tubului optic. Manevrând șurubul de la baza manșonului din partea stângă, tubul poate fi rotit, ceea ce permite examinarea imaginii microscopice de către două persoane, fără deplasarea microscopului.

Macroviza sau *viza macrometrică* este șurubul cu diametrul cel mai mare necesar pentru ajustarea grosieră a imaginii. Montată pe mânerul microscopului în partea stângă și dreaptă, realizează prin manevrare mișcări ample (pe distanțe mai mari), rapide ale platinei (măsuței port-obiect) pe verticală, apropiind sau îndepărtând preparatul microscopic de lentilele obiectivului, în timp ce tuburile microscopului sunt fixe. Macroviza se folosește pentru observarea inițială a imaginii (uneori imagini neclare) cu obiectivul cel mai mic (4x).

Microviza sau *viza microscopică* este șurubul cu diametrul mai mic decât al macrovizei, montat pe macroviză. Se folosește pentru mișcări fine, precise, lente, în vederea focalizării de precizie a specimenului și obținerea unor imagini foarte clare. Manipularea microvizei se efectuează cu mare precauție, în caz contrar putem defecta microscopul sau micropreparatul fixat pe platină. Microviza se utilizează la analiza specimenelor cu obiectivele cu capacitate de mărire mai mare (20x, 40x, 60x, 90x).

Partea optică este constituită din: sistemul de iluminat (sursa de lumină, condensorul, diafragma-iris, inelul port-filtru) și partea optică propriu-zisă (ocularele și obiectivele).

Sursa de lumină este reprezentată de un bec electric fixat în talpa microscopului, sub condensor.

Condensorul (condensatorul) se află imediat sub platină, în dreptul axului microscopului. Este format dintr-un sistem de lentile convergente, fixate într-o armătură metalică. Poate fi coborât sau ridicat cu ajutorul unui șurub lateral, din partea stângă a mânerului. Rolul condensatorului este de a transmite fasciculul de lumină venit de la o sursă până la preparat, asigurând o luminozitate mai intensă a câmpului. Prin ridicarea condensatorului, intensitatea luminii în câmpul microscopic crește, iar prin coborârea lui scade. Condensatorul se coboară când preparatul microscopic se studiază cu obiective mici și se ridică pentru obiective mari.

Diafragma-iris este un dispozitiv cuplat cu condensatorul, fiind plasat sub acesta, utilizat pentru ajustarea cantității de lumină care ajunge la specimen. Este alcătuită

dintr-o serie de lame metalice falciforme (în formă de seceră), dispuse imbricat, fixe la o extremitate și libere la cealaltă, dislocate pe un cerc metalic. Diafragma este prevăzută cu o manetă situată lateral, prin manevrarea căreia se lărgește sau se restrânge deschiderea centrală, lamelele rotindu-se în jurul punctului lor fix. Când diafragma este ușor închisă, fanta de lumină este mai mică, suficientă pentru observarea contururilor. Pentru obiective mari și preparate intens colorate, diafragma se deschide mai mult sau în întregime, utilizându-se tot conul luminos.

Inelul port-filtru, dispus sub diafragma-iris, reprezintă un suport pentru filtre colorate sau mate, utilizate, de regulă, pentru sporirea contrastului la examinarea specimenului în cazul observațiilor speciale.

Obiectivul este un sistem optic format din două sau mai multe lentile convergente, prin intermediul cărora se obține o imagine reală, mărită și răsturnată a obiectului observat. Obiectivele sunt fixate la partea inferioară a tubului microscopic, pe revolver, unde se înșurubează în locusurile respective, cu ajutorul unor carcase metalice, pe care este notată puterea de mărire a acestora (între x4 și x100), seria și apertura numerică.

După puterea de mărire disting obiective mici și mari. Obiectivele mici, care au puterea de mărire x4, x10, x20, x40 și x60, se numesc și *obiective uscate* datorită faptului că mediul interpus între lentila frontală și preparat este aerul; ele nu pot fi utilizate cu medii de imersie. Obiectivele mari, care au puterea de mărire x90, x100, se numesc și *obiective cu imersie* pentru că nu pot fi utilizate decât dacă mediul interpus între obiectiv și preparat este un lichid de imersie: apă distilată, glicerol, ulei etc.

Ocularul, component al părții optice a microscopului, este format din cel puțin două lentile plan-convexe, fixate într-o montură metalică în partea superioară a tubului optic. Lentila superioară (prin care se privește) este numită lentilă-ocular, iar cea inferioară – lentilă colectoare sau lentila câmpului. Ocularul servește la preluarea imaginii reale și inversate dată de obiectiv și transformarea într-o imagine virtuală, răsturnată și mărită. În funcție de puterea de mărire, ocularele se notează cu x4, x8, x10, x12, x15.

Puterea de rezoluție reprezintă capacitatea microscopului de a pune în evidență în mod distinct două puncte foarte apropiate (dar nu ca pe un singur punct). Funcționarea oricărui microscop depinde de *rezoluția* acestuia, adesea confundată cu magnitudinea, care se referă la mărimea imaginii. Magnitudinea totală este calculată prin înmulțirea măririi lentilelor oculare cu cea a lentilelor obiective. Dacă imaginea unei celule este mărită de la x10 până la x40, imaginea este mai mare, dar nu neapărat mai clară. Fără rezoluție, imaginea este mărită, dar detaliile nu pot fi observate. Cu creșterea grosimentului crește și rezoluția, dar mai lent decât prima. O putere foarte mare de mărire neînsoțită de o rezoluție adecvată nu servește la nimic.

Grosimentul total al microscopului (puterea totală de mărire a imaginii) se calculează înmulțind capacitatea de mărire (valoarea grosimentului) a obiectivului cu capacitatea de mărire (valoarea grosimentului) a ocularului. Astfel, dacă se lucrează cu obiectivul x4 și ocularul x10, grosimentul total este x40, iar dacă se lucrează cu obiectivul 10x și ocularul 10x, grosimentul total va fi x100.

Micrometru

La măsurarea diferitor elemente structurale ale preparatului la microscop (cristale, granule de amidon, peri, glande, polen) este folosit micromietrul ocular, etalonat în prealabil cu ajutorul micrometrului obiectiv. Micrometrul obiectiv este o lamă cu scară

de 1 mm divizată în 100 de părți. Fiecare diviziune a micrometrului este egală cu 10 µm. Micrometrul ocular reprezintă o placă rotundă de sticlă cu diviziuni. Placa se introduce în ocularul microscopului. La etalonare, diviziunile micrometrului ocular se suprapun cu diviziunile micrometrului obiectiv. Ea se face cu mărirea la care se vor efectua măsurările.

Măsurarea elementelor anatomice la microscop se efectuează, de regulă, la mărire mare. Elementul sau detaliul preparatului de măsurat se plasează în centrul câmpului vizual și se suprapune cu scara micrometrului ocular. Se determină câte diviziuni ale scării ocupă lungimea sau lățimea elementului măsurat. Cunoscând valoarea unei diviziuni a micrometrului ocular, dimensiunile elementului pot fi exprimate în micrometri.

Reguli de utilizare a microscopului

Pentru a proteja microscopul de praf, el se păstrează în dulap, acoperit cu husă. Înainte de a începe lucrul se scoate husa și se plasează microscopul pe masa de lucru, în apropierea utilizatorului (4-5 cm de la marginea mesei). Microscopul se conectează la sursa de lumină, iar butonul din partea laterală a talpei se pune în poziția „I".

- Ocularele trebuie să fie îndreptate spre utilizator. Se stabilește poziția comodă, apoi se ajustează distanța dintre oculare în corespundere cu distanța dintre ochii utilizatorului. Dacă stabilirea distanței s-a făcut corect, privind prin cele două oculare vom observa un singur câmp, rotund.
- Se verifică mobilitatea macro- și microvizei și se sterg lentilele cu o bucată curată de tifon sau cu hârtie specială fină pentru lentile.
- Se reglează poziția condensorului: mai jos pentru obiectivele mici – x4, x10 și mai sus pentru obiectivele mari x20, x40, deoarece acestea din urmă necesită o iluminare mai intensă.
- Condensorul trebuie reajustat de fiecare dată când se schimbă obiectivul, fiind suficiente ajustări ușoare. Se ajustează și diafragma-iris.
- Cu macroviza se coboară puțin măsuța port-obiect pentru a plasa prepratul de examinat pe ea. Preparatul se imobilizează cu ajutorul clamei astfel încât specimenul de analizat să se poziționeze în orificiul din măsuța port-obiect, care este străbătut de fasciculul luminos provenit de la condensator.
- Observarea micropreparatului începe cu obiectivul cel mai mic, de aceea se rotește revolverul pentru a aduce în dreptul axului optic obiectuvul x4. Obiectivul este în poziția corectă atunci când se aude un clic.
- Prin rotirea macrovizei se apropie preparatul de obiectivul tubului optic la o distanță de aproximativ 1 cm. Aceste manevrări se fac cu mare grijă pentru a evita contactul lamelei preparatului cu obiectivul. De aceea, apropierea specimenului de obiectiv cu macroviza trebuie făcută întotdeuna privind din lateral și nu prin ocular. După ce stabilim distanța admisibilă, privim în ocular și continuăm să rotim macroviza cu mișcări foarte fine și atent (în sus sau în jos), până când se obține o imagine clară.
- Pentru ajustarea clarității imaginii se utilizează microviza, efectuând rotiri fine pe distanțe scurte (nu trebuie de făcut abuz de microviză, utilizând-o în locul macrovizei) pentru a evita dereglarea acesteia și micile incidente nedorite.

- Dacă s-a obţinut imaginea clară, se observă specimenul şi la necesitate se trece la obiectivele uscate mai mari x10, x20, x40, rotindu-se în mod corespunzător revolverul pentru fiecare până când se aude clic-ul caracteristic. De fiecare dată se obţine imaginea clară, iniţial cu macroviza, apoi cu microviza. Atenţie: cu cât obiectivul este mai puternic cu atât distanţa dintre obiectiv şi specimen va fi mai mică. De aceea este important ca la utilizarea macrovizei să se privească din lateral şi nu prin ocular (există riscul spargerii preparatului şi deteriorării obiectivului).
- Obiectivele mai puternice necesită o iluminare mai intensă a câmpului microscopic, de aceea se poate mări fluxul de lumină cu manivela de pe latura dreaptă a tălpii microscopului, ridicându-se în acest scop condensorul. Pentru obţinerea contururilor mai clare ale imaginii microscopice se închide treptat diafragma-iris.

Mărimea câmpului vizual (aria văzută de examinator în microscop) este invers proporţională cu capacitatea de mărire a microscopului. Cu cât puterea de mărire este mai mare, cu atât câmpul vizual este mai mic.

În timpul lucrului se va avea grijă ca picăturile de lichid să nu nimerească pe lentila obiectivului. După studierea preparatului, măsuţa pot-obiect se coboară şi se scoate atent preparatul din clamă. Se sterge platina (în caz că s-a murdărit cu lichid), se aduce microscopul în poziţie pasivă – nici un obiectiv să nu fie pe axa tubului optic. Se deconectează sursa de lumină şi se îmbracă husa. Microscopul se pune atent în dulapul de păstrare.

Stereomicroscopul (microscopul stereo) *(fig. 3)*

Stereomicroscopul permite a vedea obiectele în volum, dând o imagine reală, ceea ce uşurează considerabil cercetarea. Cu ajutorul lui poate fi cercetat obiectul în lumină transmisă (obiectele netransparente şi secţiunile) şi în lumina reflectată (obiectele netransparente şi suprafaţa părţilor uscate ale plantelor).



Fig. 3. **Microscopul stereo *MBC 10***

Stereomicroscoapele sunt comode pentru vizualizarea obiectelor de cercetare datorită câmpului vizual mare (până la 44 mm) şi distanţei de lucru (până la 100 mm). Cu ajutorul lui se studiază diferite tipuri de formaţiuni epidermice (trihomi, glande, papile, nectarine etc.) şi modul lor de distribuire. Se analizează formaţiunile cerifere, lenticelele, relieful suprafeţelor diferitor organe vegetale.

Este al doilea tip de microscop în ordinea popularităţii. Puterea de mărire poate varia între x10 şi x80, de obicei fiind situată între x10 şi x40. Modelele cu *zoom* sunt foarte convenabile, asigurând o mărire x10 şi x60. Puterile mici de mărire sunt folosite pentru a examina obiecte mai mari, precum părti de insecte sau plante, roci, fosile, timbre, plăci de PC, monede, suprafaţa diferitor materiale etc. Pot fi studiate şi lame cu specimene.

În cazul microscoapelor stereo există două trasee separate ale luminii care produc o imagine tridimensională (3D) a obiectului sau specimenului. Obiectivul constă din două lentile, una lângă alta, care corespund celor două trasee amintite mai sus. Parametrii designului unui microscop stereo limitează efectul 3D doar la puteri mici de mărire. De obicei, sistemul de lentile constă din obiective

(lentilele mai apropiate de obiect sau specimen), oculare (lentilele mai apropiate de ochii observatorului), un mecanism de focusare și unul de poziționare a specimenului sau obiectului. Lumina (de la lămpi, lumina naturală, iluminator integrat) este folosită pentru a ilumina obiectul sau specimenul astfel încât acesta să poată fi observat. Majoritatea microscoapelor stereo au iluminator incorporat sau atasabil, pentru a putea observa specimene de diferite forme. Imaginile sunt corect orientate.

Alte tipuri de microscoape

Microscop cu contrast de fază – folosește diferențele din fazele luminii transmise sau reflectate de un specimen pentru a forma imagini distincte și contrastante ale diferitor părți ale specimenului.

Microscop polarizant – specimenul observat este iluminat cu lumină polarizată. Este folosit pentru analiza unor materiale anorganice precum cristalele, în chimia sau mineralogia optică.

Microscop fluorescent – folosește o metodă de iluminare pentru localizarea materialelor marcate fluorescent (proteine, enzime, gene), extrăgând o lungime de undă în speranța că elemente fluorescente vor apărea emitând o lumină la o lungime de undă distinctă.

Microscop digital – combinație dintre un microscop și o cameră digitală. Cele mai populare camere digitale folosesc senzori CMOS sau CCD. Camera poate fi încorporată sau atasabilă. Folosind un *software* dedicat, utilizatorul poate vedea, salva și edita imaginea. Unele programe pot face și diferite tipuri de analize profunde ale imaginii (studii biologice, medicale, farmaceutice etc.)

Microscop de buzunar – construit în baza tehnologiilor noi pentru o cameră în miniatură și iluminator. Se folosește un calculator pentru a vedea imaginea și pentru a o capta.

Microscop electronic cu transmisie *(transmission electron microscopy – TEM)* – folosește în locul luminii un flux cu electroni, care traversează secțiunile ultrafine pentru a face examinări de mare finețe și profunzime a structurii interne a unor specimene. Poate asigura măriri de peste x250000 și se pot examina topologia, ultrastructura, compoziția etc. specimenelor. Specimenele necesită o tehnică specială de pregătire (să-și mențină integritatea, să fie reprezentative, să nu sufere modifcări, deteriorări, să fie suficient de subțire – cel mult 1 μm, preferabil doar câteva zeci de nanometri).

Microscop electronic cu baleiaj *(scanning electron microscopy – SEM)* – se aseamănă cu microscopul TEM prin faptul că utilizează fasciculul de electroni, doar că în cazul SEM acest fascicul interacționează și scanează specimenul de analizat. Astfel se obțin informații despre suprafața și vecinătatea imediată a unor specimene groase. Este folosit pentru studiul suprafețelor intacte și fracturilor diferitor organite celulare, celulelor, organelor etc.

Aparat de desenat

Este folosit la schițarea imaginii obținute cu ajutorul microscopului. Părțile lui principale sunt: prisma-cub de distribuire a luminii și oglinda plată. Prisma-cub de distribuire a luminii permite observarea în același timp a obiectului la microscop și ecran sau pe coala de hârtie pe care se efectuează schițarea. Ea se fixează deasupra ocularului, iar oglinda deasupra ecranului, sub un unghi de 45°. Schițarea obiectului constă în trasarea conturului imaginii. E foarte importantă respectarea intensității

constante a iluminării obiectului şi a ecranului. În acest scop sunt folosite filtrele de lumină. Dacă dimensiunile desenului trebuie să corespundă măririi liniare a microscopului, atunci hârtia se situează la 250 mm de ocular (se are în vedere distanța dintre ecran şi oglindă, dintre oglindă şi ocular). Imaginea se schițează mai uşor cu ajutorul aparatului de desen, păstrând corecția şi raportul dimensiunilor unor părți aparte.

Microfotografierea

Se aplică pe larg la efectuarea cercetărilor biologice şi la studierea plantelor medicinale, fiind una dintre cele mai simple şi uşoare metode de fixare a imaginii. Fotografiile imaginilor microscopice se obțin prin interemediul ataşelor fotografice (microfotocalări), care se montează pe microscopul optic. Microfotografierea poate fi efectuată şi cu ajutorul camerelor obişnuite de format mic pentru amatori, adaptate la microscop.

În ultimile decenii se foloseşte microscopul optic cuplat cu o cameră de fotografiat, conectat la computer, care permite fixarea imaginilor microscopice şi stocarea lor în baza de date a registrului electronic cu informațiile corespunzătoare: tipul specimenului, capacitatea de mărire, fragmentul fotografiat, data efectuării şi numele executorului.

Utilaje pentru obținerea secțiunilor

Analiza microscopică a produsului vegetal (rădăcinilor, rizomilor, tuberculilor, fructelor, semințelor, scoarței, frunzelor etc.) necesită obținerea secțiunilor pentru preparate extemporare (temporare, rapide, provizorii) şi durabile (fixe, permanente, durabile). De regulă, se prepară manual, cu ajutorul briciului sau a microtomului.

Secționarea manuală. Secționarea manuală a specimenelor se realizează cu ajutorul briciului anatomic sau al altor dispozitive de secționare. Mânuirea corectă a briciului sau lamei de ras, dibăcia şi antrenamentul permit executarea secțiunilor suficient de subțiri pentru examinarea la o mărire a imaginii de x40, x100, x400.

În timpul lucrului, briciul se întoarce la 270° (unghiul dintre muchia briciului şi montura lui e de 90°). Se ține în mâna dreaptă, sprijinind degetul mare în mânerul briciului, din partea lamei, iar cel arătător şi mijlociu – în acelaşi loc, dar din partea opusă (din partea muchiei). Uneori briciul se pune pe degetul arătător îndoit, apăsându-l de sus cu degetul mare. Înainte de aceasta lama se udă cu apă pentru ca secțiunile să nu se lipească de brici. Obiectul, din care se fac secțiuni, se ia cu mâna stângă, se strânge între degetele mare şi arătător astfel ca suprafața lui să iasă puțin în afara nivelului degetelor. Suprafața obiectului se netezeşte preventiv cu ajutorul unui bisturiu ascuțit sau al unui cuțit. La prepararea secțiunii tăietura se face de la baza lamei, mişcând uşor briciul în direcție oblică până la vârful lamei. Muchia briciului alunecă pe degetul arătător al mâinii stângi. Pentru prepararea secțiunilor pot fi folosite şi lamele unilaterale. Fiecare secțiune se face dintr-o singură mişcare; nu se admite debitarea lor întrucât secțiunile vor fi neuniforme. Se vor tăia secțiuni mici, ele fiind mai subțiri şi mai drepte. Foarte rar este nevoie de a face secțiuni prin toată grosimea rădăcinii sau a rizomului; e suficient a tăia doar o fâşie comparativ îngustă, ce trece prin țesuturile interne şi externe ale organului (pe raza suprafeței tăieturii). Astfel se capătă secțiuni subțiri şi drepte în cazul când se taie nu de la marginea obiectului, ci punând lama briciului pe suprafața tăieturii. A căpăta o secțiune bună dintr-o dată se reuşeşte cam rar, de aceea se fac câteva secțiuni, alegându-le pentru cercetare la microscop pe

cele mai bune. Secțiunile se iau de pe brici cu ajutorul unei periuțe moi, cu acul de preparare se poate deteriora ascuțișul briciului.

În cazul obiectelor vegetale moi sau fine (componentele florale, limbul și pețiolul frunzei, tulpini, rădăcini cu diametru mic etc.) se utilizează măduva de soc în calitate de suport, care este rigidă și permite menținerea planului de secționare.

În cazul când se utilizează o lamă de ras, una din cele două laturi ascuțite se acoperă cu o bandă adezivă pentru protecția degetelor.

Secționarea cu ajutorul microtomului. Pentru obținerea secțiunilor identice foarte subțiri se utilizează microtomul. Cel mai răspândit este tipul sanie (sau glisieră).

Părțile principale ale microtomului de tip sanie sunt cuțitul fixat în susținătorul „glisierelor" și obiectosusținătorul cu instalație, care-l ridică la o anumită înălțime, ambele fixate pe batiu (suport). De regulă, obiectul se fixează în obiectosusținătorul imobil. Poziția obiectului în susținătorul microtomului se reglează prin sistemul de șuruburi și pârghii, care permit rotirea lui în toate planele, ridicarea, coborârea și fixarea trainică. Obiectul se deplasează spre cuțit prin mișcarea șurubului sau deplasarea susținătorului de obiect pe un plan oblic. Cuțitul se fixează în susținătorul „glisierelor", grație căruia poate avea o înclinație și un unghi diferit față de direcția mișcării. El se deplasează liber în plan orizontal pe „glisiere". Cuțitul se mișcă cu mâna. Una din condițiile principale pentru exactitatea lucrului cu microscopul este ca suprafața lunecândă să fie curată și netedă, „glisierele" să alunece uniform, ușor, fără izbituri. După terminarea lucrului, microtomul se acoperă bine în scopul protejării de praf.

Pentru obținerea secțiunilor poate fi folosit și microtomul cu răcire în special la obținerea secțiunilor plantelor proaspete. La înghețarea rapidă a țesuturilor în apă se pot forma rupturi, ce denaturează tabloul real. Rezultate negative se obțin și în cazurile când obiectul conține țesuturi ce diferă mult după rezistența mecanică. De regulă, prezența sectoarelor vaste de țesut mecanic deteriorează țesuturile fragile ale parenchimului în timpul tăierii.

Includerea materialului și prepararea blocurilor

Pentru prepararea secțiunilor cu ajutorul microtomului de tip sanie, materialul trebuie pregătit special. De regulă, peste el se toarnă parafină. Blocul format (cu obiectul în el) se lipește pe o bară din lemn, fixată pe obiectosusținător.

Peste obiectele tari poate fi turnată și celoidină, iar peste cele cu țesuturi fine, spongioase – gelatină sau polimeri (*polivax*).

Secțiunile din rădăcini și rizomi cu structură densă și omogenă se obțin fără o prelucrare prealabilă de lungă durată. În acest scop se ia o bucățică de rădăcină sau rizom și se introduce într-un amestec de alcool și glicerol, se presează bine (în formă de dop), se fixează în obiectosusținător și se taie. Spre deosebire de tăierea materialului turnat în mediu, se obțin secțiuni separate.

Pentru prepararea blocurilor de parafină, se ia parafină pură de calitate superioară, omogenă și amorfă. Materialul analizat, în prealabil deshidratat în alcool absolut, înainte de includere se îmbibă cu parafină. Este o procedură minuțioasă, de care depinde succesul tăierii materialului. În acest scop, alcoolul din material se înlocuiește cu un solvent, în care se dizolvă parafina (cloroform, xilol, toluen sau ulei de cedru). De regulă, materialul este trecut într-un amestec de alcool cu solventul parafinei (cloroform) în raport diferit (2:1, 1:1, 1:2), apoi în solvent curat. De fiecare dată materialul se lasă pentru câteva ore sau zile într-un amestec nou, în funcție de structura și mărimea

obiectului. Apoi solventul este înlocuit cu parafină, adică materialul se îmbibă cu parafină. Operaţia se efectuează lin şi treptat după una din următoarele căi: 1) materialul se trece treptat în amestec de solvent şi parafină; 2) materialul se introduce în solvent, adăugând treptat noi porţii de parafină. Peste 23 de zile, obiectul în soluţie de parafină se introduce în termostat la temperatura de 35-40 °C, adăugând treptat parafină. Peste încă 23 zile treptat se înlătură solventul, iar obiectul se trece în parafină curată (lichidă) şi se ţine în termostat. Numai după ce materialul s-a îmbibat bine cu parafină, este introdus în parafină.

În vase speciale sau în cutiuţe din hârtie sau din foiţe de staniol, se toarnă parafină topită, în care se introduce materialul îmbibat cu parafină şi se răceşte cât se poate de repede (solidificarea accelerată asigură amorficitatea parafinei), aranjându-l în poziţia necesară. După solidificare, materialul se scoate din vas, dând parafinei forma necesară. Surplusul de parafină se înlătură cu bisturiul sau cu briciul (se confecţionează blocul). Blocul obţinut se lipeşte pe o bucată de lemn de forma unei prisme cu dimensiunile 3x2x1,5 cm, fiartă în prealabil în parafină. Suprafeţele încălzite ale blocului şi lemnului se unesc, apoi se răcesc. Blocul căpătat se fixează în obiectosusţinătorul microtomului şi se taie secţiuni care înainte de montarea pe lama microscopică se curăţă de parafină, introducând lamele cu secţiunile lipite pe ele în cloroform sau xilol pentru 5-10 minute.

Includerea materialului în celoidină se efectuează aproximativ după aceeaşi schemă. Drept solvent pentru celoidină serveşte amestecul de alcool cu eter (1:1).

Includerea materialului în gelatină se efectuează în felul următor: materialul bine spălat de fixator cu apă se introduce pe câteva ore (până la 24 ore) în soluţie lichidă de gelatină, apoi tot atâta timp în soluţie densă de gelatină (termostat la 37 °C), după care se toarnă soluţie densă (1:3) de gelatină şi se răceşte repede. Blocul obţinut se introduce în soluţie de 5-10 % de formalină, iar înainte de prepararea secţiunilor se spală cu apă timp de 30-60 minute.

În prezent, pentru includerea materialului sunt folosiţi diferiţi polimeri. Rezultate bune dă includerea materialului în polivax (carbovax). După spălare materialul se introduce timp de 30 minute în soluţie de polivax 50 %, apoi 30 minute în soluţie de 75 %, după care 30 minute în soluţie saturată în termostat la temperatura 37 °C. Pentru prepararea soluţiilor se foloseşte polivaxul cu masa relativă de 500. În continuare se ia polivaxul cu masa relativă de 1000 (vara – 4000), apoi se introduce materialul în soluţia lui saturată timp de 30 minute la temperatura 37 °C. După expirarea timpului, materialul se trece într-un amestec de polivax şi nonex (1:1), apoi timp de 20 minute în nonex.

1.1.3. Analiza cito- şi histochimică (reacţii microchimice)

Efectuând reacţiile cito- şi histochimice şi identificând natura chimică şi localizarea compuşilor naturali nemijlocit în organitele celulare, ţesuturi şi organe, putem determina produsul vegetal.

Reacţiile cito- şi histochimice permit determinarea celor mai neînsemnate cantităţi de substanţe. O condiţie indispensabilă a reacţiei histochimice este caracterul specific, de aceea la prezenţa în obiectul cercetat a altor substanţe, ce dau aceleaşi reacţii, e necesar de a le înlătura în prealabil. Adeseori sunt efectuate şi experienţe de control cu obiectul eliberat de substanţa cercetată.

Secțiunile pentru efectuarea reacțiilor histochimice nu trebuie să fie prea subțiri, deoarece se poate distruge integritatea celulelor și pierde conținutul celular. E necesar de ținut cont de faptul că pentru o cantitate neînsemnată de substanță de identificat se cere o cantitate mică de reactivi chimici. Mulți reactivi chimici sunt instabili și necesită condiții speciale de păstrare și preparare. În caz de nerespectare a condițiilor, rezultatele aplicării reacțiilor chimice pot fi false.

Reacțiile histochimice se efectuează pe secțiuni din material proaspăt sau fixat prin tehnici speciale. Multe reacții, în special cele de identificare a unei substanțe, dar nu a localizării ei, se efectuează pe materialul uscat, fărâmițat sau pulverizat (obținut prin răzuire sau măcinare).

În funcție de caracterul și durata acțiunii reactivului reacțiile se efectuează pe lamă, sticlă de ceasornic sau în boxă închisă. Rezultatele reacției se observă la microscop mai întâi la mărire mică, apoi la mărire mare. Multe reacții histochimice necesită aplicarea rapidă și observarea rezultatelor până a avea loc difuziunea substanței analizate sau distrugerea țesuturilor obiectului sub acțiunea reactivului (acizi, baze concentrate).

Reacțiile asupra celulozei pure

Reacția cu soluția clor-zinc-iod. Există multe metode de preparare a reactivului, toate dând rezultate bune. Cea mai aplicată e cea propusă de *Novopocrovski*: 20 g clorură de zinc se dizolvă în 8,5 ml de apă la încălzire; 1,5 g de iod și 3 g de iodură de potasiu se dizolvă în 60 ml de apă. Ultima soluție se picură în prima, agitând minuțios. La apariția sedimentului, ce dispare la agitare, nu se mai adaugă soluție în acest scop fiind suficiente 1,5 ml de soluție. Reactivul pregătit se păstrează în vase de sticlă întunecată.

Reacția se efectuează pe lamă. Secțiunea se include într-o picătură de apă, se netezește, apoi apa se aspiră cu ajutorul hârtiei de filtru. Picătura de reactiv se aplică pe secțiune și se acoperă cu o lamelă. La microscop se observă colorația albastră-violetă sau liliachie a membranelor celulare, formate din celuloză pură.

Reacția dizolvării în reactivul Schveițer. Reactivul *Schveițer* este unicul dizolvant, în care celuloza se umflă, apoi se dizolvă. Conform uneea din metode de preparare a reactivului: 10 g sulfat de cupru se dizolvă în 19 ml apă și se adaugă o cantitate suficientă de soluție de hidroxid de sodiu pentru sedimentarea hidroxidului de cupru. Sedimentul se strânge pe filtru, se spală cu apă până la dispariția reacției la sulfați și se dizolvă într-o cantitate minimă de soluție de amoniac. Se păstrează în vase de sticlă de culoare întunecată, umplute ochi și astupate cu dop rodat.

Reacția se efectuează pe lamă. Secțiunea se introduce într-o picătură de reactiv, se acoperă cu o lamelă și se examinează la microscop. La început se văd clar componentele membranei celulare, apoi ele se umflă și treptat se dizolvă. Cuticula în acest caz nu se dizolvă.

Reacții pentru celuloza lignificată (pereții celulari lignificați)

Reacția cu floroglucină și acid clorhidric. Secțiunea inclusă în soluție alcoolică de floroglucină 1 % se pune pe lamă, absorbind apoi reactivul cu hârtie de filtru. Pe secțiune se aplică o picătură de acid clorhidric, iar peste 1-2 minute se adaugă o picătură de glicerol, se acoperă cu o lamelă și se studiază la microscop la mărire mică. Pereții celulari lignificați capătă o culoare vișinie, a cărei intensitate e determinată de gradul lignificării.

Reacția cu permanganat de potasiu (reacția Meule). Secțiunile se introduc în soluție de permanganat de potasiu 1 % pe o sticlă de ceasornic. Peste 5 minute secțiunile se spală cu apă, apoi se introduc pentru 2 minute în acid clorhidric 10 %, după care se spală și se trec pe lamă într-o picătură de soluție de amoniac și se acoperă cu o lamelă. Membranele lignificate ale celulelor se colorează în roșu.

Reacțiile cu floroglucină și cu permanganat de potasiu permit identificarea diferitor componenți ai ligninei (lignina *F* și lignina *M*), de aceea rezultatele obținute în aceste două reacții nu totdeauna corespund.

Membranele lignificate se colorează bine cu coloranți bazici. Cel mai des sunt folosite safranina sau combinația ei cu alți coloranți pentru celuloza pură.

Reacția cu safranină. Secțiunile se introduc în soluție de safranină de 1 % în alcool de 50 % timp de 30 minute (în boxă închisă sau pe sticlă de ceas). După expirarea timpului se spală cu alcool de 50 %, apoi cu alcool acidulat (la 100 ml alcool se adaugă 2 picături de acid clorhidric concentrat), pentru extracția culorii din elementele nelignificate (5-10 secunde), și se includ pe lamă în glicerol. Pereții celulari lignificați se colorează în roșu.

Reacția cu safranină și albastru de anilină. Secțiunile se introduc pentru 24 de ore în boxă cu soluție de safranină 1 % în alcool 50 %. Apoi se spală cu alcool 50 % și se trec pentru 2-3 minute în soluție alcoolică de albastru de anilină 1 %, se spală cu alcool 50 %, se pun pentru câteva secunde în alcool acidulat, din nou se spală cu alcool, ce conține urme de bicarbonat de sodiu, și cu alcool curat, după care se includ pe o lamă într-o picătură de glicerol. Pereții celulari lignificați se colorează în roșu, iar celuloza pură – în albastru.

Reacția cu sulfat de anilină. Din numeroasele modalități de preparare a reactivului mai frecvent se aplică următoarea: 5 g de sulfat de anilină se dizolvă în amestecul de 40 ml de apă și 50 ml alcool 50 %, apoi se adaugă apă până la cota de 100 ml. Colorarea secțiunilor se efectuează pe lamă. Pereții celulari lignificați capătă culoare galbenă stabilă.

Reacția cu paranitroanilină. Soluția de paranitroanilină 1 % colorează rapid pereții celulari lignificați în oranj. Secțiunile se colorează pe lamă.

Reacții la celuloza suberinizată și cutinizată

Pereții celulari suberinizați și cutinizați ale celulelor nu dau reacții caracteristice celulozei pure. Suberina și cutina din componența pereților celulari pot fi indentificate cu ajutorul coloranților care colorează grăsimile. Există și reacții specifice pentru suberină și cutină.

Reactia cu sudan III. Reactivul se prepară dizolvând 0,1 g colorant în 50 ml de alcool, adaugând în soluție 50 ml glicerol. Secțiunile se includ pe lamă în soluția reactivului, se acoperă cu o lamelă ce se încălzesc în scopul accelerării colorației. Reactivul se absoarbe cu hârtia de filtru și secțiunea se include în glicerol. Pereții celulari suberinizați și cutinizați se colorează în roșu-portocaliu.

Culoare analogă se observă și la aplicarea soluției roșu de șarlahot 0,1-0,2 % în alcool 70 %. Colorarea are loc fără încălzire (20-30 minute) sau la o încălzire ușoară, pentru accelerarea procesului.

Reacția la suberină cu hidroxid de potasiu. La încălzirea secțiunii în soluție de 30% hidroxid de potasiu în apă membranele suberinizate se colorează în galben. Reacția se efectuează pe lamă. La încălzirea secțiunii în soluția de 3% hidroxid de potasiu

în alcool se observă dizolvarea parțială a suberinei, iar pe suprafața membranei – picături de suberină.

Reacția la cutină cu acid sulfuric. Secțiunea se include într-o picătură de acid sulfuric concentrat, se acoperă cu lamela și se examinează la microscop. În reactiv se depistează ușor complexitatea membranei, cuticula și țesuturile cuticulare se colorează în brun-gălbui.

Reacții pentru glucide

Reacția pentru zaharuri cu fenilhidrazină. Se prepară două soluții: a) 1 g de fenilhidrazină hidroclorură în 10 ml glicerol; b) 1 g acetat de sodiu în 10 ml glicerol. Se dizolvă prin încălzire pe baia de apă. Soluțiile se păstrează în vase din sticlă întunecată la întuneric. Înainte de întrebuințare, soluțiile se amestecă în cantități egale (de dorit pe lamă). Secțiunea materialului vegetal proaspăt se include în reactiv pe lamă, se acoperă cu o lamelă și se examinează peste un timp oarecare la microscop. Paralel se prepară (în aceleași condiții) un alt preparat, studiindu-l la microscop după încălzirea pe baia de apă. La prezența monozaharidelor, cristalele de osazonă se sedimentează fără încălzire (peste câteva ore – fructoza, peste câteva zile – glucoza) sau la o încălzire de scurtă durată (10 minute). La încălzirea de lungă durată (1,5 ore), în urma hidrolizei zaharozei, se formează cristale de osazonă. În funcție de condițiile reacției și de natura zahărului, se formează cristale de osazonă sferocristale mici sau fascicule galbene-aurii, concrescențe stelate de cristale aciforme.

Identificarea amidonului la microscop. Granulele de amidon se observă bine în apă și în glicerol în lumină polarizată. În urma refracției duble, granulele de amidon dau o cruce neagră, ale cărei fâșii se intersectează în centrul stratificării granulei.

Reacția pentru amidon cu iod. Se folosește soluția de iod în iodură de potasiu (soluția Lugol), soluția de iod în alcool sau într-un lichid oarecare clarificator. Amidonul muiat în apă se colorează în albastru sau albastru-violet, cel uscat – în brun-întunecat. Prezența produselor hidrolizei parțiale a amidonului – dextrinelor, se determină după colorația roșie-violetă. Reacția cu iod este o reacție colorată unică la amidon. Obiectul cercetat (pulberea) sau secțiunea se introduc într-o picătură de reactiv, se acoperă cu o lamelă și se examinează la microscop. Granulele de amidon capătă culoare albastră sau albastră-violetă. Preparatul pregătit se cercetează imediat, fiindcă culoarea dispare repede. Dacă obiectul conține puțin amidon, se aplică soluția de iod în cloralhidrat: la soluția de cloralhidrat se adaugă (în exces) iod cristalic și se agită. Reactivul se păstrează la întuneric. Cloralhidratul clarifică obiectul și contribuie la cristalizarea granulelor de amidon, îmbunătățind rezultatul reacției.

Reacția sedimentării inulinei cu alcool. Inulina se identifică în materialul vegetal, fixat cu alcool, sub formă de sferocristale care în apă fierbinte se dizolvă. Fragmentele de material vegetal proaspăt se țin timp de câteva zile (săptămâni) în alcool de 70 %. Secțiunile pregătite din acest material se examinează în alcool sau glicerol.

Reacția Molisch pentru glucide. Rezultate pozitive dau toate glucidele: zaharurile, amidonul, inulina. Reactivi chimici: a) soluție de timol 10-20 % (sau α-naftol) în alcool; b) acid sulfuric concentrat. Secțiunea se introduce în soluție de timol (sau α-naftol), se adaugă o picătură de acid sulfuric concentrat și se acoperă cu o lamelă. La prezența glucidelor apare o colorație roșie-portocalie (timolul) sau roșie-violetă (α-naftol). Cu pulberea sau cu produsul obținut prin răzuirea materialului uscat reacția poate fi efectuată pe sticla de ceas; rezultatele reacției se observă bine cu ochiul liber (analizate pe un fundal alb).

Reacţii pentru mucilagii

Mucilagiile vegetale sunt polizaharide cu un conţinut variat. Pentru identificarea lor în materialul vegetal sunt folosite reacţiile bazate pe proprietăţile fizice ale mucilagiilor.

Reacţia sedimentării mucilagiului în alcool şi umflarea în apă. Secţiunea materialului vegetal proaspăt se introduce în alcool, se acoperă cu o lamelă şi se cercetează la microscop. Mucilagiul se observă în celule sub formă de ghemuleţe care refractă puternic lumina. Dacă într-o parte a lamelei se aplică o picătură de apă, iar în cealaltă se absoarbe alcoolul cu hârtia de filtru, poate fi observată umflarea treptată a mucilagiului în apă. La înlocuirea apei cu alcool, are loc un proces invers – sedimentarea mucilagiului.

Reacţia cu benzidină. Compoziţia reactivului: 1 g de benzidină se dizolvă într-un amestec de 10 ml acid acetic glacial şi 30 ml apă, la încălzire, se aduce cu apa până la volumul de 50 ml. Fragmente de material cercetat se introduc pentru 48 ore în soluţie de benzidină, apoi se execută secţiuni care se includ în glicerol. Celulele, ce conţin mucilagii, se colorează în galben sau portocaliu. Se colorează şi membranele lignificate, suberinizate, cutinizate ale celulelor.

Reacţia cu albastru de metilen. Se aplică soluţia de albastru de metilen în alcool (1:5000). Secţiunea se introduce în reactiv pentru câteva minute, apoi se trece în glicerol: mucilagiul se colorează în albastru-deschis. Poate fi folosită şi soluţia de verde de metilen.

Reacţia cu sulfat de cupru şi bază. Secţiunile se introduc pentru 5-10 minute în soluţie concentrată de sulfat de cupru, după care se spală cu apă şi se trec în soluţie de hidroxid de potasiu de 50 %. Mucilagiul se colorează în albastru-deschis (plantele familiilor Malvaceae, Orhidaceae) sau în verde (plantele familiei Liliaceae).

Reacţia colorării duble. Secţiunea se introduce pentru 20 minute în soluţie de clorură ferică, apoi se trece pentru 2-3 minute în soluţie de albastru de metilen, după care se spală cu apă şi se include în glicerol. Cea mai reuşită este reacţia cu secţiunea rădăcinii de nalbă-mare: celulele cu mucilagiu se colorează în galben, fibrele mecanice – în albastru-deschis, iar vasele lemnoase – în verde.

Reacţia cu tuş. Tuşul negru se dizolvă cu apă 1:10 (reactivul se pregăteşte pe măsura necesităţii). Produsul vegetal cercetat se face pulbere şi se pune pe o lamă într-o picătură de tuş, amestecând minuţios, apoi se acoperă cu o lamelă. În câmpul vizual al microscopului, pe fundalul gri-întunecat (aproape negru, cu tuş sunt colorate toate ţesuturile), se evidenţiază, ca nişte pete albe, celulele cu mucilagiu, deoarece în mucilagiu tuşul nu pătrunde.

Reacţii pentru grăsimi

Grăsimile, în majoritatea obiectelor, se întâlnesc în cantităţi considerabile ca substanţe nutritive de rezervă. La microscop picăturile de grăsimi se observă datorită proprietăţilor lor optice: culoarea gri-deschisă, încercuirea cu un inel negru îngust; la coborârea ocularului marginea neagră dispare şi circumferinţa devine mai deschisă. Deseori se folosesc diferiţi coloranţi.

Reacţia cu sudan III. Prepararea reactivului şi efectuarea reacţiei sunt descrise mai sus. Colorarea grăsimilor se efectuează şi fără încălzire. În acest scop secţiunea se introduce în reactiv pentru 24 ore, apoi se spală cu alcool de 50 % şi se include în glicerol. Sudan III colorează grăsimile în roşu-portocaliu.

Reacţia cu roşu de şarlahot dă aceleaşi rezultate ca şi cu sudan III. Ambele reacţii de colorare sunt condiţionate de dizolvarea colorantului în grăsime.

Reacţiile la grăsimi enumerate nu sunt specifice, reactivii menţionaţi colorând şi uleiurile volatile, răşinile, conţinutul laticiferelor, cutina, suberina. Pentru rezultate veridice e necesară efectuarea probei de saponificare.

Saponificarea după Rozentaler. Secţiunea se introduce în soluţie apoasă de hidroxid de potasiu 15 % şi se încălzeşte puţin. Peste un timp oarecare se formează cristale aciforme ale sărurilor grăsimilor acidulate.

Reacţia poate fi efectuată şi altfel: pe lamă se aplică o picătură de soluţie de hidroxid de potasiu 15 % şi o picătură soluţie de amoniac 20 %, se include secţiunea care se acoperă cu o lamelă, a cărei margini se contureazǎ cu parafină topită pentru prevenirea uscării. Peste 12 zile în jurul uleiului se formează cristale aciforme.

Reacţii pentru răşini

Răşinile sunt prezente în plante în pungi secretoare, canale răşinoase, laticifere, adesea împreună cu uleiurile volatile. Reacţie specifică pentru identificarea prezenţei răşinei nu există.

Reacţia cu acetat de cupru. Fragmente de material cercetat se introduc în soluţie concentrată de acetat de cupru timp de câteva zile. Apoi se prepară secţiuni, se includ în glicerol, se acoperă cu o lamelă şi se studiază la microscop. Răşinile se colorează în verde-smaraldiu.

Reacţii de colorare. Răşinile pot fi colorate cu mai mulţi coloranţi: sudan III, cu roşu de şarlahot, alcanină etc., care colorează şi alte substanţe conţinute în plante.

Reacţii pentru uleiuri volatile

Uleiurile volatile sunt un amestec de substanţe. În plante se localizează în pungi secretoare sau în celule speciale. În preparate pot fi observate fără folosirea coloranţilor: uleiurile volatile au forma unor picături care refractă puternic lumina; la gudronarea uleiului volatil picăturile au culoare galbenă-închisă, galbenă-verzuie sau cafenie-roşiatică.

Pentru colorarea uleiurilor volatile se folosesc aceiaşi coloranţi ca şi pentru grăsimi, răşini (sudan III, roşu de şarlahot). Pentru distingerea uleiurilor volatile de grăsimi şi răşini se foloseşte soluţia albastrului de metilen în apă (0,1 g de albastru de metilen se dizolvă în 500 ml de apă). Obiectele se introduc pentru câteva minute în reactiv şi apoi se examinează în apă sau glicerol. Uleiul volatil se colorează în albastru. Rezultat analog se obţine şi la aplicarea albastrului de indofenol sau amestecului acestor doi coloranţi.

Altă metodă de distingere a uleiurilor volatile de grăsimi şi răşini este volatilizarea sau dizolvarea lor. Obiectele se fierb în apă sau se supun acţiunii căldurii uscate. Uleiul volatil se volatilizează, iar grăsimile rămân, dând reacţii cu coloranţii bazici. Pentru extragerea uleiurilor volatile se foloseşte acidul acetic glacial, în care multe uleiuri volatile se dizolvă, iar grăsimile nu.

Reacţii pentru sucul laticifer (latex)

Conţinutul laticiferilor prezintă o emulsie de diferite substanţe: grăsimi, albumine, gume, cauciuc, gutapercă, ceară, zahăr, săruri minerale şi alte substanţe cu caracter specific – alcaloizi, substanţe amare, heterozide. Latexul, datorită complexului de substanţe din componenţă, poate fi colorat cu soluţia de sudan III în roşu-portocaliu şi cu soluţie alcalină în roşu vişiniu. La uscarea materialului vegetal latexul se coagulează

și în cavitatea laticiferelor se formează conglomerate, care pot fi uneori determinate la mărunțirea fragmentelor de produs vegetal sub formă de fire subțiri și lungi (scoarța de gutapercă). Pe micropreparate, după clarificarea obiectului în soluțiile de bază alcalină sau de cloralhidrat, conținutul laticiferilor se prezintă sub formă de conglomerate gri sau brun-gălbui.

Reacția de bromare după Prokofiev e bazată pe determinarea în latex a cauciucului, gutapercii. Secțiunile de material vegetal se fixează cu alcool (5 minute), se prelucrează cu clorură de var (în boxă), se spală cu acid azotic 10 % (1 minut), apoi de 3-4 ori cu apă și se introduc în glicerol. Peste câteva minute se trec pe lamă în soluție de brom în glicerol, se acoperă cu o lamelă și se lasă pentru 12-24 ore la întuneric. După bromare, secțiunile de pe lamă se spală cu alcool, apoi cu glicerol și se analizează la microscop. Bromura de cauciuc are forma unei mase cu granule mari de culoare brună. Soluția de brom în glicerol se prepară sub nișa de ventilare: la glicerolul neutru se adaugă brom cu picătura până la saturare. Se păstrează la întuneric, în sticle cu dop rodat.

Reacții pentru alcaloizi

În planta vie alcaloizii sunt sub formă de soluție, în sucul celular. La uscarea materialului vegetal formează conglomerate ce nu pot fi observate la microscopul obișnuit sau sunt adsorbite de diferite structuri celulare. Pot fi determinați doar cu ajutorul reactivilor care sedimentează alcaloizii sau prin aplicarea reacțiilor de colorare, specifice pentru fiecare alcaloid. Paralel se fac experiențe de control cu materialul din care alcaloizii preventiv sunt spălați cu alcool acidulat; secțiunile se introduc în soluție de acid tartric 5 % în alcool și se țin timp de 5-7 zile în boxă. Peste 2-3 zile solventul se înlocuiește cu altul proaspăt.

Reacții de precipitare la alcaloizi. Pentru această reacție poate fi folosit orice reactiv care sedimentează alcaloizii în țesuturile plantei. Rezultate mai bune se obțin în cazul soluției de acid picric, care formează sediment cristalizat cu mulți alcaloizi – reactivul *Dragendorff*, reactivul *Mayer*.

Reacțiile de precipitare a alcaloizilor se efectuează pe lamă, introducând în picătura reactivului secțiunea materialului vegetal proaspăt. Rezultatul reacției se examinează la microscop, comparându-l cu preparatul martor.

O altă variantă a reacției: fragmentele de material vegetal se introduc în unul din reactivii indicați timp de 1-2 săptămâni, după care se prepară secțiuni și se includ în glicerol. Sedimente ale alcaloizilor pot fi observate sub formă de aglomerări de ace mici (picrați) sau incluziuni granuloase mici de culoare gri sau gălbuie-gri. Sedimentul de natură alcaloidă dă rezultate negative cu același reactiv în experiența de control.

Cu ajutorul reacțiilor de sedimentare se poate determina localizarea alcaloizilor în țesuturile plantei. În materialul vegetal uscat prezența alcaloizilor poate fi identificată prin efectuarea următoarei reacții. Produsul obținut prin răzuirea materialului sau pulberea se pun pe lamă, se adaugă 2-3 picături de acid acetic 5%, se acoperă cu o lamelă și se încălzește (nu până la fierbere). Peste 2-3 minute alături se pune a doua lamelă, astfel ca sub ea să se adune lichidul. După aceasta, prima lamelă se scoate împreună cu pulberea și pe ea se aplică o picătură de reactiv pentru alcaloizi (reactivi *Wagner*, *Mayer*, *Draghendorff*), care pătrunde sub lamelă și provoacă precipitarea alcaloizilor.

Identificarea alcaloizilor separați în materialul vegetal se efectuează cu ajutorul reacțiilor la alcaloidul dat.

Reacții pentru saponine

Identificarea histochimică a saponinelor nu totdeauna dă rezultatele scontate, deoarece nu există reacții specifice, care pot fi efectuate în țesuturile plantelor. Mai convingătoare sunt rezultatele reacției, bazată pe proprietățile hemolitice ale saponinelor.

Determinarea saponinelor prin hemoliză. Secțiunea materialului vegetal proaspăt se pune pe o bucățică de gelatină sanguină, se acoperă cu o lamelă și se lasă pentru 30-40 minute. În cazul prezenței în produs a saponinelor, în jurul secțiunii se formează o zonă transparentă roșie. Gelatina sanguină se prepară adăugând la soluția de gelatină 6-8 % în soluție izotonică de clorură de sodiu suspensie de eritrocite (2-3 picături de suspensie de eritrocite sau sânge defibrinat la 2-3 ml de soluție de gelatină). După gelificare, masa subțire (2-3 mm) se fragmentează.

Reacția cu clorură de stibiu. Secțiunea plantei proaspete se prelucrează 2-3 min cu vapori de amoniac și se include în acetonă pentru fixare. Peste un minut secțiunea se scoate, iar după evaporarea acetonei se aplică o picătură de soluție saturată de clorură de stibiu în cloroform. Apoi ușor se încălzește, se include în ulei de vaselină, se acoperă cu o lamelă și se examinează la microscop. Saponinele sub acțiunea clorurii de stibiu capătă culoare de la roșie-purpurie până la roșie-violetă și se observă sub formă de conglomerate sau ghemulețe în stratul lateral al protoplasmei.

Reacții pentru derivații antracenului

Reacția cu bază. Secțiunea se așează pe lamă într-o picătură nu prea mare de soluție de hidroxid de sodiu 5 % sau amoniac, se adaugă o picătură de glicerol, se acoperă cu o lamelă și se examinează la microscop colorația roșie sau roșie-violetă a țesuturilor, în care sunt localizați derivații antracenului. Treptat culoarea se răspândește pe toată secțiunea. Culoare aprinsă cu baze dau numai derivații antrachinonei, iar derivații antronei și antranolului se colorează în galben. În acest caz, culoarea poate fi intensificată prin prelucrarea prealabilbă a secțiunii cu peroxid de hidrogen.

Microsublimarea derivaților antracenului. În materialul vegetal fărâmițat (obținut prin răzuire, pulberea) derivații antracenului pot fi determinați după microsublimare. Pe lamă se pune un inel de sticlă de 11,5 cm înălțime și 2 cm în diametru, în care se introduce o cantitate mică de pulbere (0,1-0,2 g), se acoperă cu o altă lamă și se încălzește până la 210 °C. Derivații antracenului se sublimează și se condensează pe lama rece de deasupra. La microscop, în sublimat se observă ace subțiri de culoare galbenă, care în lumină ultravioletă (microscopul luminescent) au o luminescență galbenă-aprinsă sau roșie-portocalie. În soluția etanolică de hidroxid de potasiu sublimatul se dizolvă, colorând soluția în roșu (roiba dă o colorație violetă–alizarina).

Reacții pentru substanțe tanante

În celula vegetală vie substanțele tanante se află sub formă de soluție în sucul celular, parțial adsorbite de coloizii celulari. În produsul vegetal substanțele tanante formează ghemuri neuniforme de culoare cafenie-gălbuie. Colorația e condiționată de flobafene – produse de condensare ale substanțelor tanante.

Reacția cu sărurile oxidului feric. Se folosesc clorura ferică și alaun de fier-amoniu sub formă de soluții 1 % în apă. Țesuturile, care conțin substanțe tanante, se colorează de la sărurile oxidului feric în negru-albastru sau negru-verde. Nuanța culorii abia se observă, deoarece acizii organici din celulă pot schimba culoarea albastră în verde. Reacția se efectuează pe lamă. Secțiunea se introduce într-o picătură de reactiv, se

acoperă cu lamela şi se examinează coloraţia preparatului la microscop. Culoarea se răspândeşte repede în toată secţiunea.

Reacţia cu soluţia de bicromat de potasiu. Reactivul se foloseşte la determinarea localizării substanţelor tanante în ţesuturile plantelor. Se foloseşte soluţie de bicromat de potasiu de 5-10 %. Fragmentele de material se introduc în reactiv pe câteva zile, apoi se prepară secţiuni. În celulele, ce conţin substanţe tanante, cade un sediment granulos gri sau cafeniu-roşiatic. Culoarea cafenie-roşiatică apare uneori doar peste un timp oarecare. Formarea sedimentului este frânată de acizii organici – oxalic, citric, malic, tartric; în prezenţa lor se formează doar o culoare omogenă cafenie-gălbuie.

Reacţia cu soluţie de molibdat de amoniu (reacţia *Gardiner* sau *Visseling*). Componenţa reactivului: 1 parte soluţie de clorură de amoniu 25 %, 1 parte soluţie de molibdat de amoniu 50 %; 1 parte – apă. Sub acţiunea acestui reactiv, în celulele ce conţin substanţe tanante, se depune un precipitat galben, cu taninuri reactivul dă un sediment roşu. Pătrunderea reactivului în ţesuturi e accelerată de alcalinizarea soluţiei (adăugarea amoniacului). Reacţia e foarte sensibilă, neajunsuri fiind dizolvarea uşoară a sedimentului în acizi diluaţi şi în apă, stabilitatea redusă a reactivului la păstrare. Reacţia se efectuează pe lamă, iar rezultatele ei se examinează la microscop.

Analiza luminescentă

Analiza luminescentă are o aplicare largă în analizele şi studiile tehnice, chimice, biologice, medicale, geologice, agricole etc. Pe larg este aplicată la studierea plantelor medicinale şi a produselor vegetale, deoarece multe substanţe produse de organismul vegetal posedă luminescenţă.

Majoritatea metodelor bazate pe proprietătile luminescente ale substanţelor pot fi numite „analize macroluminescente", reieşind din faptul că observarea luminescenţei se efectuează cu ochiul liber. Analiza macroluminescentă include şi determinarea unor zone aparte sau a unor spoturi pe cromatograme cu luminescenţa lor în lumină ultravioletă; efectuarea reacţiilor fluorescente calitative, la care substanţa cercetată se determină după fluorescenţa produsului rezultat de la interacţiunea substanţei cu reactivul chimic.

Analiza macroluminescentă este larg aplicată şi la analiza produsului vegetal, deoarece multe specii vegetale conţin substanţe, caracterizate printr-o fluorescenţă anumită, care joacă rol diagnostic în identificarea lui. Rădăcina de drăcilă la frântură are o fluorescenţă galbenă-verzuie pronunţată; rizomul şi rădăcinile de leuzeie – galbenă-aurie; rizomul şi rădăcina de strigoaie – albastră-deschisă (azurie); rizomul şi rădăcina de roibă – roşie-aprinsă.

Studierea luminescenţei produsului vegetal ajută la identificarea lui conform caracterelor macroscopice. Cu această metodă poate fi determinată preventiv şi calitatea produsului vegetal, deoarece caracterul luminescenţei e condiţionat de luminescenţa substanţelor biologic active, ce defineşte valoarea terapeutică a produsului vegetal (alcaloizi, flavonoide, cumarine, derivaţii antracenului etc.). De aceea, schimbările proprietăţilor luminescente ale produsului vegetal reflectă schimbările în conţinutul sau în structura substanţelor biologic active.

După observarea luminescenţei produsului vegetal pot fi efectuate şi reacţii fluorescente în scopul determinării substanţelor conform fluorescenţei obţinute în urma interacţiunii produselor cu reactivul corespunzător. Reacţiile pentru flavonoide (prelu-

crarea cu vapori de amoniac, cu soluție de bază, cu soluție de clorură de aluminiu) sunt aplicate la intensificarea fluorescenței flavonoidelor nemijlocit în materialul vegetal. În așa caz se schimbă nu numai intensitatea luminescenței (ea se mărește), dar și spectrul.

Pentru analiza macroluminescentă a produsului vegetal pot fi utilizate diferite surse de radiație, emițând pentru excitarea luminescenței lumina ultravioletă de rază scurtă, ce asigură o imagine clară și policromatică.

1.2. Stabilirea purității produselor vegetale

După examenul macroscopic, microscopic și microchimic pentru identificarea produselor vegetale se recurge la controlul purității acestora.

Puritatea produselor vegetale presupune absența substituirilor și falsificărilor, iar impuritățile admise să nu depășească anumite limite. Controlul purității produselor vegetale se efectuează prin determinarea gradului de impurificare cu părți din alte plante sau cu organe ale aceleiași plante, ce nu constituie produsul vegetal, și cu corpuri străine de origine anorganică sau organică.

Determinarea purității se face conform normelor prevăzute de documentația tehnică de normare (farmacopee, monografii temporare, standarde, norme interne sau specificații tehnice).

Recepționarea produselor vegetale

Recepționarea produselor vegetale se efectuează prin loturi. Lotul este cantitatea de produs vegetal de o singură denumire, cu masa nu mai mică de 50 kg, omogenă după toți indicii, însoțită de actul care confirmă calitatea lui. Actul cuprinde următoarele informații:

- numărul și data eliberării actului;
- denumirea și adresa expeditorului;
- denumirea produsului vegetal;
- numărul lotului;
- masa lotului;
- anul și luna recoltării;
- locul recoltării (pentru produsele vegetale obținute de la plantele răspândite spontan);
- rezultatele studiului calității produsului vegetal;
- documentația tehnică de normare a produsului vegetal;
- semnătura persoanei, responsabilă de calitatea produsului vegetal cu indicarea numelui și prenumelui.

Fiecare unitate de producție se supune unei examinări exterioare pentru stabilirea corespunderii ambalajului și marcării cerințelor documentației tehnice de normare. Se atrage atenție la corectitudinea și starea ambalajului (lipsa umectării, perforațiilor și altor deteriorări, care acționează negativ asupra calității și păstrării produsului vegetal).

Pentru controlul corespunderii calității produsului vegetal cerințelor documentației tehnice de normare se selectează unități de produs nevătămate din diferite locuri ale lotului după tabelul 1.

Controlul calității produsului vegetal cu unități de produs vegetal deteriorate se efectuează separat de cel nedeteriorat, analizând fiecare unitate de produs.

Tabelul 1

Volumul unităților de produs selectate pentru controlul calității

Numărul unităților de produs	Volumul
1 – 5	Toate unitățile
6 – 50	5 unități
Mai mult de 50	10 % din unitățile de produse ale lotului

Notă: 10 unități de produs nedepline se egalează cu 10 unități (de exemplu, la prezența în lot a 51 unități de produs volumul selecției constituie 6 unități).

Unitățile de produs selectate pentru analiză se deschid și vizual se examinează omogenitatea produsului vegetal (întreg, fragmentat, presat etc.), culoarea, mirosul, prezența mucegaiului, putregaiului, mirosului străin stabil, care nu dispare la ventilare; prezența plantelor otrăvitoare și a altor impurități (pietre, sticlă, nisip, excremente de rozătoare și pasări etc.). Concomitent, cu ochiul liber sau cu ajutorul lupei (x5-10), se determină prezența dăunătorilor.

În cazul constatării neomogenității produsului vegetal, prezenței mucegaiului, putregaiului, impurităților în exces, tot lotul trebuie supus resortării, apoi prezentat din nou la recepționare.

La stabilirea mirosului rânced, stabil la ventilare, la prezența plantelor otrăvitoare și impurităților (pietre, sticlă, nisip, excremente de rozătoare și păsări), infectării cu dăunători de gradul II și III, lotul nu se admite pentru recepționare.

Selectarea probelor

Din fiecare unitate de produs selectată pentru analiză se iau, evitând mărunțirea, 3 probe precise: de sus, de jos și din mijloc. Din saci, baloturi probele se iau la adâncimea de cel puțin 10 cm de sus, apoi, după descoaserea pe cusătură, din mijloc și de jos; pentru semințe și fructe uscate se folosește sonda pentru luarea probelor de grăunțoase. Din produsul vegetal, ambalat în lăzi, prima probă precisă se ia din stratul de sus, a doua – după înlăturarea a circa jumătate de ladă de produs vegetal, și a treia – de la fundul lăzii. Probele precise trebuie să fie aproximativ egale după masă. Din toate probele precise, după amestecare cu precauție, se formează o probă unică.

Pentru stabilirea gradului de infectare cu dăunători, din proba unică, prin metoda de evartare, se separă o probă cu masa de 0,5 kg, pentru speciile de produse vegetale mici, și cu masa de 1 kg pentru speciile de produse vagetale mari. Această probă se trece într-un vas bine închis, în care se introduce și eticheta.

Din proba comună, prin metoda de evartare, se separă proba medie. Pentru aceasta produsul vegetal se trece pe o suprafață curată, netedă, în formă de pătrat, se nivelează, după posibilități, într-un strat cât mai subțire și după diagonale se împarte în patru triunghiuri. Două triungiuri opuse se înlătură, iar cele două rămase se unesc împreună și se amestecă. Această operație se repetă până cantitatea de produs vegetal din două triunghiuri opuse corespunde masei probei medii indicate în tabelul 2. Rămășițele probei comune se unesc într-un 1ot. Devierile admisibile în masa probei medii nu trebuie să depășească ± 10%.

Tabelul 2

Masa probei medii pentru analiză

Denumirea produsului	**Masa probei medii, g**
Muguri de mesteacăn	150
Muguri de pin	350
Frunze întregi, cu excepţia:	400
frunze de siminichie	200
frunze de strugurii-ursului şi merişor	150
frunze tăiate, treierate	200
Flori, cu excepţia:	300
flori de *Artemisia cina*	150
flori de gălbenele, mătase de porumb	200
flori de soc	75
flori de muşeţel	200
flori de piretru	400
Părţi aeriene, lăstari, cu excepţia:	600
părţi aeriene de sovârv	150
părţi aeriene de anabasis	200
Părţii aeriene tăiate, treierate	200
Fructe suculente, cu excepţia:	200
fructe de măceş	300
fructe de ardei	550
Fructe uscate şi seminţe, cu excepţia:	300
seminţe de laur-păros şi linte-lanceolată	200
fructe de ami	150
Tuberculi, rizomi şi rădăcini întregi, cu excepţia:	600
rizomi şi rădăcini de roibă, rizomi de sclipeţi	400
tuberculi de untul-vacii	200
rizomi şi rădăcini de iarbă-mare	1000
rizomi de ferigă şi rădăcini de revent	1500
rădăcini de săpunariţă	10300
rădăcini de lemn-dulce decorticat	2500
rădăcini de lemn-dulce nedecorticat, rădăcini de drăcilă	6000
Rizomi şi rădăcini framentate, mărunţite	250
Rizomi şi rădăcini în pulbere	150
Scoarţe întregi	600
Scoarţe fragmentate	200
Alte tipuri de produse vegetale:	
pedicuţă	100
cornul-secării	200
băcalie de mesteacăn	3000
tal de laminarie	5000
laminarie mărunţită	1000
laminarie în pulbere	4000
Produse de origine animală:	
burete-de-apă-dulce	150

Proba medie se ambalează în pungi, în care se introduce eticheta; o etichetă identică se leagă şi la pungi. Pe etichetă se indică:

- denumirea produsului vegetal; furnizorul;
- numărul lotului;
- masa lotului,
- data selectării probei;
- numele, prenumele şi funcţia persoanei care a selectat proba.

Din proba medie, prin metoda de cvartare, se selectează probele analitice pentru determinarea:

- identicităţii, fragmentării şi conţinutului de impurităţi;
- pierderii în masă la uscare (proba analitică pentru determinarea pierderii în masă la uscare se ia îndată după selectarea probei medii şi se închide ermetic);
- conţinutului de cenuşă şi principii active.

Notă. Pentru părţi aeriene întregi, rădăcini, rizomi, bulbi, după luarea probei analitice pentru determinarea identicităţii, fragmentării şi conţinutului de impurităţi, o parte din proba medie destinată determinării pierderii în masă la uscare, cenuşii şi principiilor active, se taie cu cuţitul, secatorul in bucăţi mari, se amestecă, apoi se selectează probele analitice corespunzătoare.

Masa probelor analitice trebuie să corespundă datelor din tabelul 3.

Dacă la selectarea probelor analitice masa produsului vegetal în cele 2 triunghiuri opuse este mai mică sau mai mare decât cea indicată în tabelul 3, trebuie din cele 2 triunghiuri rămase de nivelat produsul pe toată grosimea stratului şi de adăugat cantitatea necesară sau prin aceiaşi metodă de-l înlăturat din triunghiurile corespunzătoare.

Probele analitice trebuie cântărite cu eroarea ±:

- 0,01 g – la masa probei până la 0,05 kg;
- 0,1 g – la masa probei de la 0,1 până la 0,5 kg;
- 1,0 g – la masa probei de la 0,5 până la 1 kg;
- 5,0 g – la masa probei mai mare de 1 kg.

Tabelul 3

Masa probei analitice pentru determinare

Denumirea produsului	Masa probei analitice (g) pentru determinarea:		
	Identicităţii, fragmentării şi elementelor străine	Pierderii în masă la uscare	Cenuşii şi principiilor active
Flori, cu excepţia:	200	25	50
flori de gălbenele, mătase de porumb	100	25	50
flori de soc	20	15	25
flori de muşeţel	50	25	100
flori de piretru	300	25	50
Fructe suculente, cu excepţia:	100	50	50
fructe de măceş	200	25	50
fructe de ardei	300	25	150
Fructe uscate şi seminţe, cu excepţia:	200	25	50
seminţe de laur-păros şi linte-lanceolată	50	25	100
fructe de ami	10	25	100

Continuare

Frunze întregi, cu excepţia:	200	25	150
frunze de siminichie	100	15	50
frunze de strugurii-ursului şi merişor	50	25	50
Frunze tăiate, treierate	5	25	25
Muguri de mesteacăn	50	25	25
Muguri de pin	200	25	100
Părţi aeriene întregi, lăstari, cu excepţia:	300	50	200
părţi aeriene de sovârv	25	15	50
părţi aeriene de anabasis	50	25	100
Părţii aeriene tăiate, treierate	50	25	100
Rizomi şi rădăcini framentate, mărunţite	100	25	100
Rizomi şi rădăcini în pulbere	50	15	25
Scoarţe întregi	400	50	100
Scoarţe fragmentate	100	25	50
Tuberculi, rizomi şi rădăcini întregi, cu excepţia:	300	50	200
rizomi şi rădăcini de roibă, rizomi de sclipeţi	200	50	100
tuberculi de untul-vacii	100	25	50
rizomi şi rădăcini de iarbă-mare	600	50	100
rizomi de ferigă şi rădăcini de revent	1000	100	300
rădăcini de săpunariţă	10000	200	–
rădăcini de lemn-dulce decorticat	2000	100	200
rădăcini de lemn-dulce nedecorticat, rădăcini de drăcilă	5000	100	500
Alte tipuri de produse vegetale:			
pedicuţă	50	25	25
cornul-secării	50	25	100
băcalie de mesteacăn	2000	500	100
taluri de laminarie	3000	500	1000
laminarie mărunţită	500	100	300
laminarie în pulbere	100	50	200
Produse de origine animală:			
burete-de-apă-dulce	100	25	–

Notă. Masa probei medii şi analitice pentru produsul vegetal proaspăt este indicată în DAN corespunzătoare.

Dacă în urma cercetărilor s-a stabilit necorespunderea cailităţii produsului vegetal DAN, analizele se repetă. Pentru analiza repetată, din unităţi de produs nedeschise selectarea se efectuează în corespundere cu cerinţele din tabelul 1. Rezultatele analizei repetate sunt definitive şi se calculează pentru tot lotul.

Nota. Această procedură nu este valabilă pentru recepţionarea şi selectarea probelor de analiză a rădăcinii de ginseng.

Selectarea probelor din producţia divizată

Produsul vegetal se ambalează în cutii şi pachete de hârtie în stare întreagă, fragmentată, fărâmiţată, sub formă de pulbere, tăiat-presată etc. Recepţionarea producţiei divizate se efectuează în serii.

Serie se consideră o cantitate determinată (nu mai mult de 10000 kg) de producţie similară, fabricată timp de 24 ore şi însoţită de un document, care confirmă calitatea ei. Seria este formată din unul sau câteva loturi (dar nu mai mult de 3), prealabil amestecate.

La selectare, unitățile de produs trebuie luate din diferite locuri ale seriei prezentate la analiză.

Volumul de selectare depinde de volumul seriei și este prezentat în tabelul 4.

Tabelul 4

Volumul de selectare al probelor de analiză în funcție de numărul unităților de produs

Numărul unităților de transport al producției în serie	Volumul selecției
1 – 5	Toate unitățile
6 – 50	5 unități
mai mare de 50	O unitate de transport de producție de la fiecare 10 unități, care constituie seria, pentru produsul vegetal ambalat în cutii și pachete de hârtie în formă întreagă, fragmentată, fărămițată, în pulbere, brichete, țigări O unitate de transport de la fiecare 20 unitați de produs vegetal ambalat în formă tăiat-presată

Notă. 10 sau 20 unitați de transport nedepline se egalează cu 10 sau 20 unități corespunzător.

Selectarea probei. Unitățile-transport de producție (lăzi), selecționate pentru analiză, se deschid și din diferite locuri ale fiecărei lăzi deschise se aleg câte 2 unități ambalate de produs vegetal. Din selecția din 1-4 unități de transport se aleg 10 unități ambalate. Unitățile ambalate de produs selectate constituie proba unică.

Selectarea probelor medii și analitice de produs vegetal

- Ambalat întreg, tăiat, mărunțit și în formă de pulbere. Ambalajele probei comune alese se deschid, conținutul se toarnă pe o suprafață curată, netedă, se amestecă minuțios și prin metoda de cvartare se selectează proba medie. Masa probei medii este indicată în tabelul 2.
- Din proba medie, prin metoda de cvartare, se aleg probele analitice. Masa probelor analitice este menționată în tabelul 3.
- Masa probelor medii și analitice pentru produsul vegetal, ambalat în formă de pulbere, este indicată în tabelele 2 și 3, cum este prevăzut pentru produsul vegetal tăiat și mărunțit.
- Ambalat tăiat-presat. Din proba medie se iau 5 ambalaje pentru determinarea conținutului de bucățele mărunțite și pudră. Celelalte unități de ambalaj se deschid, conținutul se trece pe hârtie curată, se amestecă și prin metoda de cvantare se selectează proba medie cu masa de 0,1 kg. Din proba medie, prin metoda de cvartare, se selectează 3 probe analitice: pentru determinarea identității și dezagregării – 0,025 kg, pentru determinarea pierderii în masă la uscare – 0,025 kg, pentru determinarea cenușii și principiilor active – 0,050 kg.
- Ambalat în formă de brichete. Brichetele din proba comună se așează într-un strat, apoi din diferite locuri se iau 20 brichete (proba medie). 10 brichete se folosesc pentru determinarea dimensiunilor și masei, altele 10 – pentru determinarea conținutului de pudră. După determinarea pudrei aceste 10 brichete se distrug, minuțios se amestecă și prin metoda de cvartare se selectează probele analitice. Masa probelor analitice este indicată în tabelul 3.

În cazul când proba comună constă din 10 brichete, 5 brichete se folosesc pentru determinarea dimensiunilor și masei brichetelor, iar 5 – pentru determinarea pudrei și selectarea probelor analitice.

Determinarea fragmentării

Fragmentarea produselor vegetale se determină din probele analitice a căror masă este indicată în tabelul 3.

Proba de analizat se toarnă pe sita indicată în documentația tehnică de normare corespunzătoare produsului vegetal și, cu precauție, prin mișcări lente de rotație se cerne, neadmițând o mărunțire adăugătoare. Cernerea părților fragmentate se consideră terminată când cantitatea de produs vegetal, care a trecut prin sită la cernere adăugătoare timp de o minută constituie mai puțin de 1% din produsul vegetal, rămas pe sită.

Pentru produsul vegetal întreg particulele, care au trecut prin sită, se cântăresc și se calculează conținutul lor procentual, raportat la masa probei analitice.

Pentru cernerea produsului vegetal tăiat, mărunțit, pulverizat se folosesc două site. Proba produsului vegetal se toarnă pe sita de sus și se cerne. După aceasta separat se cântărește produsul vegetal care a rămas pe sita de sus și care a trecut prin sita de jos și se calculează conținutul procentual al particulelor care n-au trecut prin sita de sus și al celor care au trecut prin sita de jos la masa probei analitice. Eroarea cântăririlor constituie ±0,0001 kg, la masa probei analitice mai mare de 0,1 kg, și ±0,00005 kg, la masa probei analitice de0,1 kg și mai puțin.

Norma de particule fragmentate admisă este indicată în DAN corespunzătoare.

Determinarea corpurilor străine din produsele vegetale

Partea probei analitice, rămasă după cernerea particulelor fragmentate (pentru produsul vegetal întreg), sau rămășițile comune de pe sita de sus și cea de jos (pentru produsul vegetal tăiat, fragmentat), se trece pe o suprafață netedă, curată și cu ajutorul unei pensete se selectează corpurile străine prevăzute în documentația tehnică de normare pentru produsul vegetal respectiv. Corpurile străine din produsele vegetale pot fi constituite din:

- părți de produs vegetal care și-au schimbat culoarea (brunificate, înnegrite, decolorate etc.);
- alte părți de aceeași plantă care nu corespund caracterelor macroscopice stabilite pentru produsul vegetal;
- impurități organice (părți din alte plante netoxice);
- impurități minerale (sol, nisip, pietricele).

Concomitent se atrage atenția la prezența dăunătorilor de hambar.

Fiecare fel de element străin se cântărește separat cu eroarea ±0,0001 kg, la masa probei analitice mai mult de 0,1 kg, și cu eroarea 0,00005 kg la masa probei analitice de 0,1 kg, și mai puțin și rezultatele se raportează la 0,1 kg produs vegetal.

Conținutul fiecărui fel de impurități în procente (x) se calculează după formula:

$$x = \frac{m_1 \times 100}{m_2},$$

în care: m_1 – masa impurității, g; m_2 – masa probei analitice a produsului vegetal, g.

Determinarea infectării produselor vegetale cu diferiți dăunători de hambar

Studiul la prezența dăunătorilor de hambar se efectuează în mod obligatoriu la recepționarea produselor vegetale și anual la păstrare.

Produsul vegetal se controlează la prezența dăunătorilor vii și morți prin examinarea cu ochiul liber și cu ajutorul lupei (x5-10) a caracterelor macroscopice, de asemenea la determinarea fragmentării și elementelor străine. Prin aceasta se atrage atenția la prezența părților de produs vegetal atacat de dăunători. Foarte minuțios se studiază cusăturile, cutele ambalajului, crăpăturile în lăzi. La identificarea în produsul vegetal a dăunătorilor de hambar se determină gradul de infectare folosind o proba analitică specială (vezi „Recepționarea produselor vegetale").

Proba analitică de produs vegetal se cerne prin sita cu diametrul orificiilor de 0,5 mm. În produsul vegetal, care a trecut prin sită, se controlează prezența căpușelor, în produsul vegetal rămas pe sită – prezența moliilor, cariilor și larvelor lor și a altor dăunători vii și morți. Căpușele se numără cu lupa, moliile, larvele lor, pupele și alți dăunători – cu ochiul liber sau cu ajutorul lupei. Numărul de dăunători identificați se recalculează la 1 kg de produs vegetal și se stabilește gradul lui de infectare.

La prezența în 1 kg de produs vegetal a cel puțin 20 de exemplare (*Tyroglyphus farinae* L., *Glyciphagus descuctor* Schrank., *Cheyletus eruditus* Schrank., *Carpoglyphus lactis* L. etc.), infectarea produsului vegetal cu căpușe se consideră de gradul I; la prezența a peste 20 de căpușe, care liber se mișcă pe suprafața produsului vegetal și nu formează mase compacte – de gradul II; dacă căpușe sunt multe, ele formează mase compacte pâsloase, mișcarea lor este dificilă – de gradul III.

La prezența în 1 kg de produs vegetal a moliilor (*Tinea granella* L.) și larvelor lor, a cariilor de pâine (*Sidotrepa panicea* L.) și a altor dăunători în număr nu mai mare de 5, infectarea produsului vegetal se consideră de gradul I; la prezența a 6-10 dăunători – gradul II; mai mult de 10 dăunători – gradul III.

În cazul identificării în produsul vegetal a dăunătorilor de hambar el se supune dezinsectării, după ce se cerne prin sita cu diametrul orificiilor de 0,5 mm (la infectarea cu căpușe) sau de 3 mm (la infectarea cu alți dăunători).

După dezinsectare produsul vegetal se folosește în funcție de gradul de infectare. Produsul vegetal cu gradul I de infectare poate fi folosit în practica medicală, cu gradul II și în cazuri excepționale cu gradul III – numai în scopul obținerii substanțelor individuale.

Factorul de îmbibare al produselor vegetale

Prin *factor de îmbibare* se înțelege volumul total (în mililitri) ocupat de 1 g de produs vegetal după îmbibare cu apă.

Determinarea factorului de îmbibare se efectuează într-un cilindru sau într-o eprubetă gradată de 25 ml, cu dop rodat, cu scara de gradație înaltă de 10-12,5 cm și cu subdiviziuni de 0,1 ml.

1 g de produs vegetal, în felul prezentării în documentația analitică de normare respectivă, cântărit la balanța analitică, se trece într-un cilindru sau într-o eprubetă gradată descrisă mai sus și se umectează cu 1 ml de alcool sau de acetonă. Se adaugă 25 ml apă și se agită energic timp de 1 oră. Primele patru agitări la interval de 5 minute, apoi din 10 în 10 minute, până la 1 oră, agitând de fiecare dată câte 1 minut. Se lasă în repaus pentru 5 ore, apoi se determină volumul ocupat de produsul vegetal și mucilagiul care aderă la acesta.

Pentru stabilirea factorului de îmbibare se calculează valoarea medie a trei determinări și se raportează la 1 g de produs vegetal.

Determinarea umidității

Gradul de umiditate până la care este adus produsul vegetal în timpul procesului de uscare are o mare importanță pentru conservare. Dacă procentul de umiditate este

prea mare, o parte din procesele enzimatice ce au loc în interiorul celulei vegetale continuă, conducând la degradarea principiilor active. Pe de altă parte, umiditatea prea mare favorizează mucegăirea rapidă a produselor vegetale.

Determinarea umidităţii se poate face prin următoarele procedee:

- Uscarea în etuvă;
- Uscarea în vid;
- Uscarea în exsicator;
- Antrenarea cu vapori de solvenţi organici.

Uscarea în etuvă

Se aplică produse vegetale care nu conţin principii active degradabile la temperatură ridicată (105 °C).

Într-o fiolă de cântărire cu dop rodat, uscată şi cântărită în prealabil, se introduce cantitatea specificată (1-5 g) de produs vegetal (pulverizat). Fiola de cântărire se menţine în etuvă, deschisă, împreună cu capacul, 3-4 ore la 105 °C. Ulterior se închide fiola, se răceşte în exsicator, după care se cântăreşte. Se continuă uscarea pe perioade de câte o oră, urmate de răcire în exsicator şi cântărire până la masa constantă.

Umiditatea produsului vegetal se calculează după formula:

$$U = (a - b)\ 100/a,$$

în care: *a* – masa produsului vegetal înainte de uscare (g); *b* – masa produsului vegetal după uscare (g); *U* – umiditatea produsului vegetal (%).

Uscarea în vid

Se efectuează în etuvă sau în exsicatoare speciale, sub o presiune de cel mult 2,7 kPa (20,3 mmHg).

Uscarea în exsicator

Se aplică în cazul produselor vegetale cu principii active termolabile. Se efectuează în prezenţa unor substanţe deshidratante: clorură de calciu anhidră, silicagel anhidru, pentaoxid de fosfor etc. Fiola de cântărire cu produsul vegetal se menţine 24 de ore într-un exsicator, la temperatura camerei, şi apoi se cântăreşte. Uscarea şi cântărirea se repetă la intervale de 6 ore, până la o masă constantă.

Antrenarea cu vapori de solvenţi organici

Metoda se bazează pe antrenarea vaporilor de apă de către vaporii unui solvent nemiscibil cu apa. Se foloseşte în cazul unor produse lichide sau moi şi al unor produse vegetale cu un conţinut ridicat de ulei volatil.

Determinarea se realizează cu ajutorul aparatului *Dean-Starck* (FRX) *(fig. 4)*. Se cântăreşte exact o cantitate de produs vegetal, se introduce în balonul uscat al aparatului şi se adaugă 200 ml xilen sau toluen şi câteva bucăţi de porţelan poros. Încălzirea se face la o sursă electrică. Distilarea se continuă până când volumul apei separate rămâne constant. Procedura durează cel puţin 2 ore.

Concentraţia în apă a probei de analizat se calculează conform formulei:

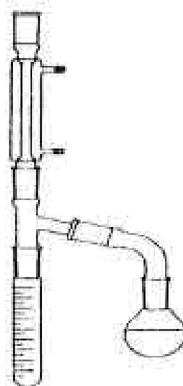


***Fig. 4.* Aparat de antrenare cu vapori de solvenţi organici pentru determinarea umidităţii**

$$C = V/m \times 100,$$

în care: c – concentrația apei în proba analizată (%); V – volumul apei din eprubeta gradată a tubului colector (ml); m – masa probei luată în lucru (g).

Determinarea cenușii totale și a cenușii insolubile în HCl de 10 %

Determinarea cenușii totale

Cenușa este reziduul obținut prin calcinarea unui produs vegetal și reprezintă substanțele anorganice dintr-un material vegetal.

Calcinarea se face în creuzete aduse la o greutate constantă prin încălzire. Materialul vegetal exact cântărit se încălzește până la carbonizare; creuzetul se lasă să se răcească în exsicator, după care se cântărește. Operația se repetă până la o masă constantă. Dacă este necesar, se aplică câteva picături de apă, peroxid de hidrogen soluție concentrată sau acid nitric.

Cantitatea de cenușă (x) se calculează procentual după formula:

$$x = g_1 \times 100/g,$$

în care: g_1 – masa cenușii (g); g – masa produsului vegetal analizat (g).

Determinarea cenușii insolubile în acid clorhidric diluat

Are ca scop determinarea conținutului de cloruri, insolubile în apă, ale unor metale grele (Pb, Hg, Bi).

Calcinarea cu acid sulfuric

Se efectuează dacă în monografia respectivă se prevede „calcinarea cu acid sulfuric" și urmărește prezența ionilor care formează sulfați.

1.3. Determinarea calității produselor vegetale

Calitatea produselor vegetale este apreciată după conținutul de principii active și depinde de recoltarea corectă, uscarea corespunzătoare (umiditatea trebuie să se încadreze în limitele admise), gradul de puritate și conservarea corespunzătoare.

Determinarea calității produselor vegetale este necesară pentru avizarea folosirii acestora în terapeutică sau ca materie primă în industria farmaceutică și în laboratoarele galenice.

Metode de stabilire a calității unui produs vegetal:

- Dozarea substanțelor solubile
- Determinarea cantitativă a principiilor active

Dozarea substanțelor solubile

Se efectuează în cazul în care nu se cunosc sau nu sunt suficient precizate principiile active ale produsului vegetal respectiv. Substanțele extractive reprezintă componentele din produsele vegetale care se pot extrage în anumite condiții cu solvenții prevăzuți în monografiile respective. Extracția se poate face la rece sau la cald.

Extracția la rece: 5,0000 g de produs vegetal pulverizat se tratează cu 50 g de solvent (apă, alcool, eter) într-un flacon cu dop rodat, se agită 24 de ore și se filtrează; 10 g de filtrat se evaporă la sicitate pe baia de apă într-o fiolă de cântărire, în prealabil tarată. Se usucă la 100-105 °C timp de 3 ore, se răcește în exsicator și se cântărește.

Extracția la cald: 1,0000 g de produs vegetal pulverizat se tratează cu 50 g de solvent (apă, alcool, eter) într-un flacon cu dop rodat, cântărit în prealabil, se agită și se lasă în repaus 60 de minute. Se adaptează la balon un refrigerent și se încălzește la

fierbere 2 ore. După răcire se completează cu solvent până la cantitatea inițială și se filtrează. 10 g de filtrat se evaporă la sicitate pe baia de apă într-o fiolă de cântărire, în prealabil tarată, iar reziduul se usucă la 100-105 °C timp de 3 ore, se răcește în exsicator și se cântărește.

Cantitatea de substanțe extractive se raportează la 100 g de produs vegetal și se calculează după formula:

$$E = A \times 5 \times 100/B,$$

în care: *E* – cantitatea de substanțe extractive; *A* – masa reziduului (g); *B* – masa de produs vegetal (g).

Determinarea cantitativă a principiilor active

Se efectuează prin diferite metode (titrimetrice, colorimetrice, nometrice, gravimetrice etc.), în funcție de proprietățile fizico-chimice ale principiilor active prezente în produsele vegetale.

NOŢIUNI GENERALE DE CROMATOGRAFIE

Cromatografia este o metodă fizico-chimică de separare şi analiză a unor substanţe dintr-un amestec. Se bazează pe interacţiunea diferenţiată a doi sau mai mulţi compuşi de separat cu două faze cromatografice: faza staţionară şi faza mobilă care se deplasează într-o direcţie determinată. Asigură *analiza* (examinarea amestecului, componentelor sale şi relaţiile dintre acestea), *identificarea* (determinarea unui amestec sau componente pe baza unor componente deja cunoscute), *purificarea* (separarea componentelor pentru a izola unul dintre ele care prezintă interes pentru studii ulterioare) şi/sau *cuantificarea* (determinarea cantităţii amestecului si/sau a componentelor prezente în probă).

Metoda se bazează pe migrarea variată a substanţelor din amestec, ca urmare a unor diferenţe de adsorbţie, repartiţie, solubilitate, mărimea moleculei etc.

2.1. Clasificarea metodelor cromatografice în funcţie de:

- ***mecanismul separării:***
  - Cromatografie de adsorbţie
  - Cromatografie de repartiţie
  - Cromatografie de schimb ionic
  - Cromatografie de excluziune
  - Cromatografie de afinitate
- ***natura fazelor cromatografice:***
  - Cromatografie de gaze (GC)
  - Gaz-lichid (GLC)
  - Gaz-solid (GSC)
  - Cromatografie de lichide (LC)
  - Lichid-lichid (LLC)
  - Lichid-solid (LSC)
  - Cromatografie cu fluide supercritice (SFC)
- ***configuraţia sistemului cromatografic:***
  - Cromatografie pe coloană (CC)
  - Cromatografie pe coloane clasice (cu umplutură)
  - Cromatografie pe coloane capilare
  - Cromatografie planară (CP)
  - Cromatografie în strat subţire (CSS)
  - Cromatografie pe hârtie (CH)

2.2. Cromatografia pe hârtie (CH)

Este o metodă cromatografică de separare a compuşilor din amestec care foloseşte ca fază staţionară hârtia cromatografică (tip *Watman*), tăiată în benzi de dimensiuni convenabile (8-10 cm / 40 cm).

Faza mobilă (developantul) este constituită din solvenţi puri sau amestecuri de solvenţi, în funcţie de natura componentelor care urmează a fi separate.

Faza mobilă se introduce în vase cromatografice din sticlă (camere de developare), de formă cilindrică sau paralelipipedică, de dimensiuni corespunzătoare, cu posibili-

NOȚIUNI GENERALE DE CROMATOGRAFIE

Cromatografia este o metodă fizico-chimică de separare și analiză a unor substanțe dintr-un amestec. Se bazează pe interacțiunea diferențiată a doi sau mai mulți compuși de separat cu două faze cromatografice: faza staționară și faza mobilă care se deplasează într-o direcție determinată. Asigură *analiza* (examinarea amestecului, componentelor sale și relațiile dintre acestea), *identificarea* (determinarea unui amestec sau componente pe baza unor componente deja cunoscute), *purificarea* (separarea componentelor pentru a izola unul dintre ele care prezintă interes pentru studii ulterioare) și/sau *cuantificarea* (determinarea cantității amestecului și/sau a componentelor prezente în probă).

Metoda se bazează pe migrarea variată a substanțelor din amestec, ca urmare a unor diferențe de adsorbție, repartiție, solubilitate, mărimea moleculei etc.

2.1. Clasificarea metodelor cromatografice în funcție de:

- ***mecanismul separării:***
  - Cromatografie de adsorbție
  - Cromatografie de repartiție
  - Cromatografie de schimb ionic
  - Cromatografie de excluziune
  - Cromatografie de afinitate
- ***natura fazelor cromatografice:***
  - Cromatografie de gaze (GC)
  - Gaz-lichid (GLC)
  - Gaz-solid (GSC)
  - Cromatografie de lichide (LC)
  - Lichid-lichid (LLC)
  - Lichid-solid (LSC)
  - Cromatografie cu fluide supercritice (SFC)
- ***configurația sistemului cromatografic:***
  - Cromatografie pe coloană (CC)
  - Cromatografie pe coloane clasice (cu umplutură)
  - Cromatografie pe coloane capilare
  - Cromatografie planară (CP)
  - Cromatografie în strat subțire (CSS)
  - Cromatografie pe hârtie (CH)

2.2. Cromatografia pe hârtie (CH)

Este o metodă cromatografică de separare a compușilor din amestec care folosește ca fază staționară hârtia cromatografică (tip *Watman*), tăiată în benzi de dimensiuni convenabile (8-10 cm / 40 cm).

Faza mobilă (developantul) este constituită din solvenți puri sau amestecuri de solvenți, în funcție de natura componentelor care urmează a fi separate.

Faza mobilă se introduce în vase cromatografice din sticlă (camere de developare), de formă cilindrică sau paralelipipedică, de dimensiuni corespunzătoare, cu posibili-

tatea de închidere etanşă. Developantul se introduce în vas cu 24 ore înaintea determinării cromatografice pentru saturarea atmosferei cu vaporii sistemului de solvenţi.

Soluţiile de analizat (probă, etalon) se aplică cu ajutorul unor micropipete pe linia de start, în pete circulare sau benzi.

Separarea cromatografică se realizează prin migrarea fazei mobile într-o anumită direcţie, pe cromatogramă. În funcţie de direcţia de migrare a developantului, se deosebesc următoarele tehnici de cromatografiere: ascendentă, descendentă, circulară, orizontală, bidimensională. Migrarea fazei mobile de-a lungul cromatogramei este numită *developare.*

Când faza mobilă ajunge la distanţa propusă (linia de front), hârtia cromatografică se scoate din vas şi se usucă. Se notează *timpul de migrare şi distanţa de migrare.*

Petele se evidenţiază, prin metode selectate în funcţie de proprietăţile substanţelor separate (vizibil, fluorescentă în UV, pulverizare cu reactivi corespunzători etc).

Într-un sistem dat faza staţionară-faza mobilă, fiecărui component îi corespunde o anumita valoare R_f:

$$R_f = \frac{h}{H},$$

în care: *h* – distanţa parcursă de substanţă de la linia de start până la centrul spotului, cm; *H* – distanţa parcursă de developant de la linia de start până la linia de front, cm (*fig. 5*).

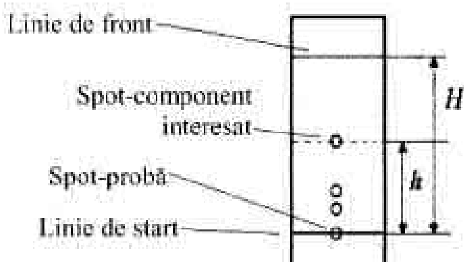


***Fig. 5.* Schema cromatogramei**

Pentru identificarea substanţelor, se compară pe aceeaşi cromatogramă valoarea R_f şi culoarea sau fluorescenţa spoturilor obţinute pentru soluţia-probă şi, respectiv, pentru soluţia-etalon; cele 2 spoturi trebuie să aibă aceleaşi caracteristici.

2.3. Cromatografia în strat subţire (CSS)

Cromatografia în strat subţire (CSS), (*Thin layer chromatographic* – TLC) este o metodă de analiză oficinală atât în E.Ph.6, cât şi în Farmacopeea Română Ediţia a X-a (FRX). În E.Ph.6 este o metodă oficinală utilizată în analiza calitativă a majorităţii substanţelor medicamentoase oficinale. Tehnica dată prezintă o serie de avantaje: este simplă, rapidă, economă şi accesibilă, utilizează cantităţi mici de substanţă şi are o bună putere de rezoluţie.

Cromatografia în strat subţire este o metodă de separare a componentelor din amestec asemănătoare cu cromatografia pe hârtie, cu deosebirea că faza staţionară este reprezentată de o pulbere adsorbantă de puritate cromatografică ce se aplică în strat

subţire pe plăci cromatografice din sticlă sau alte materiale, de dimensiuni diferite (de obicei 20x20 cm).

Faza staţionară este constituită din pulberi cu granulaţie fină şi uniformă: silicagel, celuloză microcristalină, oxid de aluminiu, poliamidă etc., cu sau fără liant (amidon, gips, carboximetilceluloză).

Pregătirea plăcilor cromatografice. Pulberea adsorbantă se suspendă în apă (în proporţie – 1:2 m/V), se agită puternic şi se aplică pe plăcile în prealabil bine degresate, fie manual, fie cu ajutorul unor dispozitive speciale, într-un strat uniform, de ~ 0,25 mm grosime. Plăcile se usucă la temperatură ambiantă, apoi se menţin în etuvă la 105-110 °C timp de 1 oră, pentru activare. Plăcile astfel pregătite se păstrează în exsicator. Dacă nu se folosesc în 3 zile de la activare, este necesară reactivarea în etuvă.

Faza mobilă poate fi constituită dintr-un singur solvent sau, mai frecvent, dintr-un amestec de solvenţi (metanol, cloroform, butanol, eter etilic, toluen, acetat de etil).

Separarea componentelor din amestec se bazează pe distribuţia diferită a substanţelor între cele două faze: staţionară şi mobilă. Viteza de migrare a substanţelor depinde de natura lor chimică. Cu cât o substanţă este mai bine adsorbită de faza staţionară, viteza sa de migrare este mai mare, deci şi valoarea R_f a spotului va fi mai mare şi invers.

Pentru evidenţierea spoturilor se examinează cromatograma în lumina zilei şi în lumină UV (254, 366 nm), ca atare sau după ce se tratează cu reactivi corespunzători (*fig. 6*).

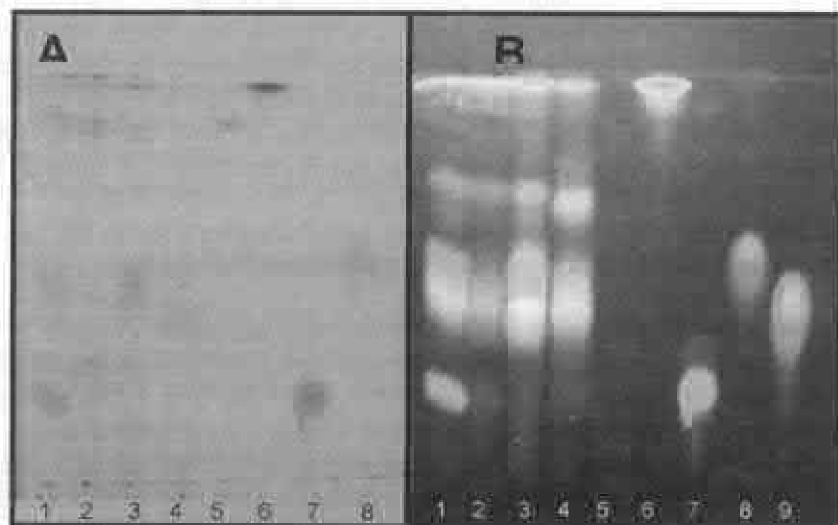


***Fig. 6.* CSS a extractelor alcoolice din părţi aeriene la 4 specii ale *Hypericum* (faza mobilă:** acid formic anhidric: acetat de etil: apă (6:9:90). *A* – La lumina zilei; *B* – La lumina UV 366 nm: *1* – extract din *H. perforatum* L.; *2* – extract din *H. elegans* L.; *3* – extract din *H. tetrapterum* Fries; *4* – extract din *H. hirsutum* L.; *5* – hipericină; *6* – evercetol; *7* – hiperozidă; *8* – rutozidă; *9* – acid clorogenic

2.4. Cromatografia pe coloană (CC)

Faza staţionară pentru cromatografia pe coloană este un material adsorbant de granulaţie corespunzătoare (silicagel, oxid de aluminiu, sephadex, celuloză etc), care

se introduce într-un tub de sticlă, prevăzut în partea inferioară cu un robinet (coloană cromatografică). Peste adsorbant se adaugă soluția extractivă concentrată, apoi developantul, în cantități mici. La trecerea solventului prin coloană se realizează separarea componentelor în zone de adsorbție diferite. Fiecare fracțiune se colectează în recipiente (eprubete) diferite, se evaporă solventul și substanțele separate se pot identifica prin alte metode (CSS, UV, IR etc).

2.5. Cromatografia în fază gazoasă (CG)

Gazcromatografia (GC), (*Gas chromatography* – GC) este o metodă fizico-chimică de separare care poate fi utilizată pentru analiza calitativă și cantitativă a substanțelor medicamentoase.

Cromatografia în fază gazoasă este o metodă fizico-chimică de separare a compușilor volatili din amestec, în care faza mobilă este un gaz (gaz purtător), iar faza staționară un solid sau un lichid repartizat uniform pe pereții unei coloane capilare.

Probele analizate sunt aduse în stare de vapori, în camera de vaporare, la o temperatură suficient de ridicată pentru a asigura o evaporare rapidă, fără a produce o degradare termică a probelor.

Faza mobilă se deplasează continuu prin coloana cromatografică, cu viteză constantă, iar la ieșire gazul purtător trece prin detector, care emite un semnal electric proporțional cu concentrația componentei din faza gazoasă. Detectorul este conectat la sistemul de înregistrare, iar rezultatele se prezintă sub forma unui grafic semnal-timp (gaz-cromatograma), picurile corespunzătoare fiecărei componente caracterizându-se printr-un anumit timp de retenție (timpul scurs de la injectare până la ieșirea din coloană). Gaz-cromatograful poate fi cuplat la un spectrometru de masă care înregistrează spectrele de masă ale substanțelor separate, care pot fi identificate cu ajutorul standardelor.

2.6. Cromatografia de lichide de înaltă performanță (CLIP)

Cromatografia de lichide de înaltă performanță (CLIP), (*High performance liquid chromatography* – HPLC) este cea mai utilizată metodă cromatografică. Avantajele metodei CLIP față de GC sunt creșterea eficacității cromatografice și reducerea timpului de analiză.

Este o metodă de separare a substanțelor dintr-un amestec în care faza mobilă este un lichid, iar faza staționară, conținută într-o coloană, un solid cu granulație fină, un solid impregnat cu un lichid sau un solid pe care sunt grefate grupări organice.

Faza mobilă circulă prin coloana cromatografică cu un debit constant, sub presiune, apoi trece prin detector. Compoziția fazei mobile poate să rămână constantă pe toată durata determinării (eluție izocratică) sau să varieze după un anumit program (gradient de eluție).

Sistemul de detectare folosit trebuie să permită determinarea cantităților de componente prezente în faza mobilă și se bazează pe spectrofotometrie de absorbție, refractometrie diferențială, fluorimetrie etc. Se înregistrează o cromatogramă care cuprinde picurile corespunzătoare componentelor separate, caracterizate printr-un anumit timp de retenție. Măsurarea ariilor de sub picuri poate da indicii cu privire la proporția componentelor din amestec.

ANALIZA MACROSCOPICĂ, MICROSCOPICĂ ȘI CHIMICĂ A PRODUSELOR VEGETALE

3.1. Produse vegetale cu conținut de glucide

Definiție. Glucidele sunt substanțe cu funcții mixte care conțin în molecula lor grupări carbonilice și hidroxilice. Cu excepția unor derivați azotați (aminoglucide), sunt substanțe ternare formate din carbon, hidrogen și oxigen. Împreună cu protidele și lipidele reprezintă constituenții de bază ai materiei vii.

Clasificarea. După gradul de complexitate (reacția de hidroliză) se clasifică în *oze*, substanțe monomoleculare ce nu hidrolizează, și *ozide* – compuși formați la unirea mai multor resturi de monoglucide prin eliminare de apă. Ozidele hidrolizează, iar după numărul monoglucidelor se clasifică în oligozide (formate din 2-8 monoglucide) și poliholozide (formate din sute și mii de resturi de monoglucide). Poliholozidele pot fi **omogene** (amidon, inulină, celuloză) sau **neomogene** (mucilagii, pectine, gume).

3.1.1. Caractere macro- și microscopice

AGAR-AGAR (geloza) – produs de prelucrare rezultat prin gelificarea decoctului preparat din diferite alge roșii din genurile *Gelidium, Gracilaria, Eucheitma, Phylophora (înc. Rodophyta)*, originare din mările și oceanele Extremului Orient.

Caractere macroscopice: se prezintă sub formă de fâșii cu lungimea de 30-60 cm și lățimea de 5-6 mm, izolate sau reunite în pachete translucide, flexibile, membranoase, cu striații longitudinale.

Culoarea alb-gălbuie sau galben-cenușie. Nu prezintă miros, gustul mucilaginos.

ALTHAEAE FOLIA – frunze de nalbă-mare

Planta producătoare: ***Althaea officinalis* L.** – nalbă-mare

Fam. **Malvaceae**

Caractere macroscopice: frunze triunghiulare, lobate, de culoare verde-cenușie, tomentoase, cu marginea inegal dințată, nervațiunea palmată. Consistența moale, gustul mucilaginos.

Caractere microscopice: în secțiune transversală ambele epiderme au stomate de tip anizocitic, numeroși peri tectori unicelulari, reuniți câte 2-8 în formă de stea, și peri glandulari cu picior scurt și glandă pluricelulară (peri tip malvacee). În parenchim se găsesc celule cu mucilagii și oxalat de calciu.

ALTHAEAE RADICES – rădăcini de nalbă-mare

Caractere macroscopice: rădăcini laterale, curățate de suber și tăiate transversal; uneori rădăcini mai groase, despicate de-a lungul. Fragmentele de rădăcini pot fi drepte sau puțin încovoiate, cilindrice, de diferită lungime și grosime (până la 2 cm). Suprafața exterioară este transversal brăzdată, cu rugozități și fibre moi, lungi, stratificate cu urme ale tulpinii aeriene în formă de puncte mici întunecate. Fractura rădăcinii la exterior lungfibroasă, în interior – rugos granulată; la rupere face praf (amidonul), în apă – mucilaginează. Culoarea rădăcinii la exterior și în ruptură albă sau albă-gălbuie; miros slab, specific, gust dulceag, mucilaginos.

Reacție calitativă: la aplicarea unei picături de bază pe suprafața rădăcinii apare colorație galbenă de lămâie (mucilagiu).

Caractere microscopice: secțiunea transversală prin rădăcina necurățată *(fig. 7)* prezintă un suber din mai multe rânduri, după care urmează parenchimul dintru-un rând de celule cu pereți subțiri. În scoarță se disting mai multe grupuri concentrice de fibre liberiene, alungite tangențial; membranele fibrelor – puțin îngroșate și lignificate. Gradul înalt de lignificare a fibrelor indică calitatea proastă a produsului vegetal (proba cu floroglucină și acid clorhidric concentrat). În centrul secțiunii este grupat lemnul primar, de unde pornesc razele medulare, care continuă până în zona corticală. Celulele mai mari din parenchimul principal al scoarței și lemn conțin mucilagii, sunt de culoare mai deschisă (nu conțin amidon) și refractă puternic lumina. Restul celulelor conțin amidon sau druze de oxalat de calciu.

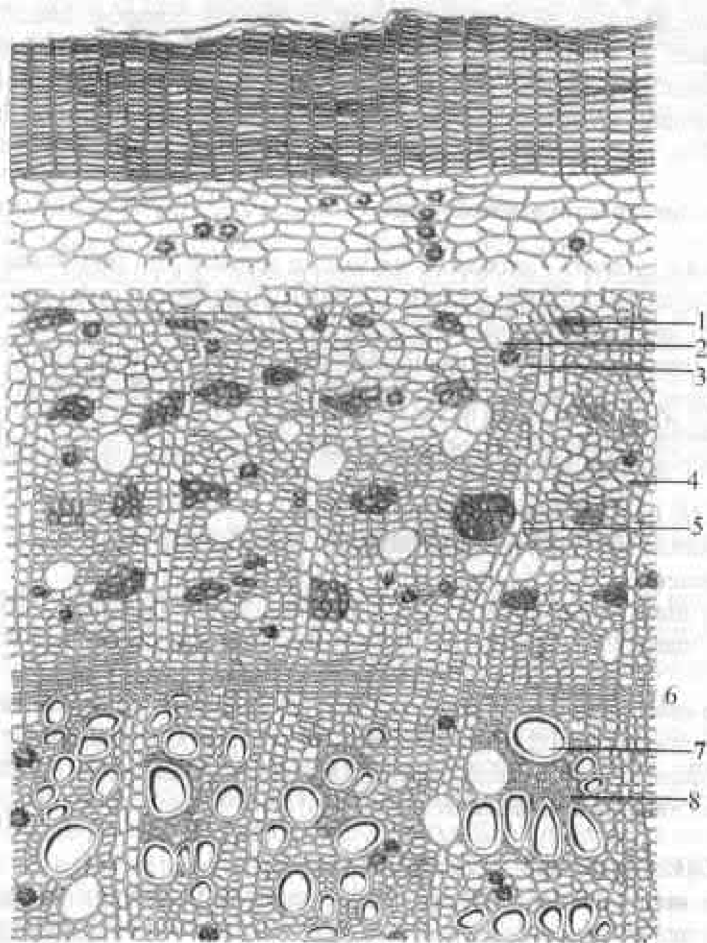


***Fig. 7.* Secțiune transversală prin rădăcina de nalbă-mare (x280):**
1 – fibre liberiene; *2* – celule cu mucilagiu; *3* – druze de oxalat de calciu;
4 – amidon; *5* – raze medulare; *6* – cambiu; *7* – vase; *8* – traheide

Pulberea rădăcinii de nalbă-mare este albă sau alb-gălbuie. La microscop *(fig. 8)* prezintă fragmente de parenchim cortical în grupuri şi izolat de vase reticulare şi traheide înguste poroase; granulele de amidon (vezi în apă, glicerol) sunt alungite, ovale sau riniforme simple şi di-penta-compuse, cu diametrul de 5-28 µm; pot fi întâlnite fragmente de parenchim cu amidon şi druzede oxalat de calciu. Mucilagiul din pulbere poate fi uşor identificat cu tuş sau cu alte reactive.

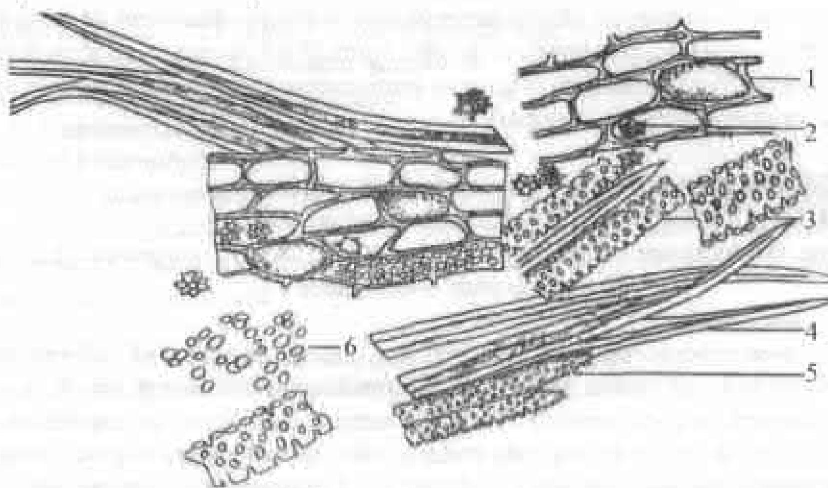


***Fig. 8.* Elementele pulberii rădăcinii de nalbă-mare (x280):** 1 – celule cu mucilagiu; 2 – druze de oxalat de calciu; 3 – vase; 4 – fibre liberiene; 5 – traheide; 6 – amidon

AMYLUM – amidon

Tritici amylum – amidon de grâu, obţinut din cariopsele de *Triticum aestivum* L. (Poaceae)

Maydis amylum – amidon de porumb, obţinut din cariopsele de *Zea mays* L. (Poaceae)

Solani amylum – amidon de cartof, obţinut din tuberculii de *Solanum tuberosum* L. (Solanaceae)

Caractere macroscopice: pulbere albă sau fragmente aglomerate, fără gust şi miros, insolubilă în apă rece şi solvenţi organici, iar în apă fierbinte formează o cocă.

Caractere microscopice: sorturile de amidon se diferenţiază după tip (simple, semicompuse, compuse), formă, dimensiuni, modul de stratificare şi poziţia hilului (centric, excentric) în granulă *(fig. 9)*.

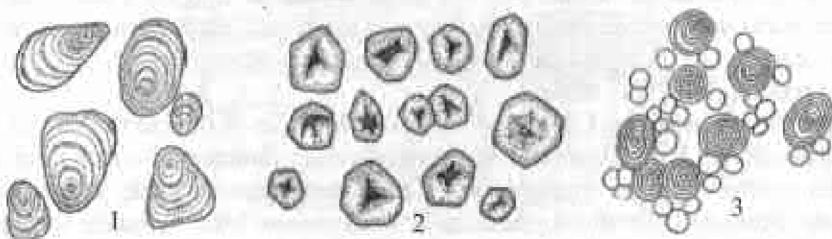


***Fig. 9.* Granule de amidon din:** 1 – tubercul de cartof; 2 – cariopsă de porumb; 3 – caiopsă de grâu

Tritici amylum: granule mici, rotunde, cu diametrul de 2-10 µm şi granule mari sferice sau lenticulare cu diametrul de 10-45 µm. Poziţia hilului este centrală, iar stratificarea concentrică este invizibilă sau greu vizibilă. Rareori se prezintă în granule asociate.

Maydis amylum: granule simple, poliedrice cu diametrul de 2-23 µm, sau rotunde, cu diametrul de 25-32 µm. Hilul centric, iar stratificarea concentrică.

Solani amylum: granule simple neregulat-ovoidale, cu diametrul de 30-100 µm, şi granule simple rotunde, cu diametrul de 10-35 µm. Hilul excentric, cu stratificările concentrice vizibile. Rar se întâlnesc şi granule semicompuse (2-3 granule simple alăturate, cu câteva straturi amilogene comune).

ECHINACEAE HERBA – părţi aeriene de echinacee

ECHINACEAE RADICES – rădăcini de echinacee

Plante producătoare: ***Echinaceae angustifolia*** DC, ***E. purpurea*** (L.) Moench. ***E. pallida*** Nutt. – echinacee

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: specii ierboase, perene, cu rizom şi rădăcini bine dezvoltate. Rădăcinile cilindrice, ramificate, brun-cenuşii la exterior şi albe la interior, cu un inel întunecat în zona centrală. Tulpinile aeriene ramificate, cu aspect de tufă, cu înălţimea de până la 1,5 m, cu mai multe creste, cu peri aspri şi pete brun-roşcate. Frunzele liniar-lanceolate, de 3-6 cm lăţime, cu 3 nervuri arcuate şi cu peri aspri. Inflorescenţele ovoidal-conice, cu bractee ascuţite, care la maturitate se lignifică, devenind ţepoase. Florile ligulate sunt sterile, roze, situate marginal, cu ligule de 5-7 cm lungime şi 0,5 cm lăţime. Florile tubuloase sunt portocalii-brune, bisexuate. Fructele achene albe-gri, tetramuchiate, prevăzute cu dinţi la partea superioară.

Caractere microscopice: în secţiune transversală rădăcina prezintă suber format din 3-5 rânduri de celule, iar în parenchim se evidenţiază canale secretoare şi celule cu mucilagiu. Frunza de *E. pallida* are o structură ecvifacială, iar cele două epiderme sunt acoperite de numeroşi peri tectori. Frunza de *E. purpurea* are o structură bifacială, cu contur mult mai pronunţat în dreptul nervurii mediane, şi cu peri rari.

FARFARAE FOLIA – frunze de podbal

Planta producătoare: ***Tussilago farfara*** L. – podbal

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: frunze circulare sau lat-ovate cu baza adânc-cordiformă, marginea cu incizii neregulate şi dinţi mici, rari. Limbul frunzei gros, cu lungimea de 8-15 cm şi lăţimea de 10 cm, peţiolul subţire, canelat, lung de 5 cm. Frunzele, pe faţa superioară, sunt verzi, pe cea inferioară albe datorită abundenţei de peri lungi încolăciţi, care îi dau un aspect pâslos.

Gust mucilaginos, slab amărui.

Impurificări posibile: Captalan – *Petasites hibridus* (L.), Gaerth, Mey et Seherb. şi *P. spurius* (Retz) Rchb. Frunzele se deosebesc prin dimensiunile mai mari decât la podbal cu contur aproape triunghiular şi adâncitură mare la bază; pe partea de jos tomentoasă. Brusture – *Arctium lappa* L. şi *A. tomentosum* Mill. Frunzele sunt mai mari ca la podbal, cu contur rotund sau lat-oval, pe faţa inferioară tomentoase, de culoare cenuşie.

GUMMI ARABICUM (ACACIAE GUMMI) – produs întărit şi uscat la aer, obţinut prin exsudaţia naturală sau prin incizia ramurilor şi trunchiului arborelui *Acacia senegal* şi a altor specii de *Acacia* (Fabaceae).

Caractere macroscopice: fragmente neregulate, ovoide, globuloase sau reniforme, alb-gălbui, galbene, opace, friabile, cu secţiunea netedă şi lucioasă. Nu prezintă miros, gustul mucilaginos.

LAMINARIAE STIPITES – stipi (filoizi) de alge brune

Plante producătoare: ***Laminaria saccharina*** (L). Lamour; *L. japonica* Aresch.; *L. digitata* (Huds.) Lamour. – alge brune

Fam. **Laminariaceae**

Filumul ***Phaeophyta***

Caractere macroscopice: fragmente foliforme lamelate de diferite dimensiuni, consistente, coriacee, culoarea verde-măslinie până la cafenie-închisă cu un strat albui de manitol cristalizat. Miros specific, caracteristic pentru alge, gust sărat. La afundarea în apă se umflă şi mucilaginează.

LINI SEMINA – seminţe de in

Planta producătoare: ***Linum usitatissimum*** L. – in

Fam. **Linaceae**

Caractere macroscopice: seminţe ovate sau oval-ovate, comprimate, lăţite, rotunjite la un capăt şi îngustate, ascuţite la celălalt. Suprafaţa seminţelor netedă, lucioasă, culoarea cafenie sau cafenie-deschisă. Gust mucilaginos, uleios, fără miros. Dimensiunile: 4-6 mm lungime, 2-3 mm lăţime. Seminţele calitative lunecă în mână; la afundarea în apă se acoperă cu mucilagiu.

Caractere microscopice: pe secţiunea transversală *(fig. 10)*, epiderma este alcătuită din celule plate, cu o cuticulă fină, bogată în mucilagiu stratificat, urmată de un parenchim din două rânduri de celule cu pereţii subţiri şi un rând de celule scleroase, galbene, alungite cu pereţii îngroşaţi, cu pori şi canalicule. Urmează un strat îngust – stratul nutritiv, format din celule incolore, alungite, turtite. Ultimul strat al tegumentului seminal este format dintr-un singur rând de celule tetragonale sau poligonale cu pigment roşu-brun de flobafene. Sub tegumentul seminal se află albumenul format din 5-6 straturi de celule mari cu pereţi groşi. Celulele embrionului conţin aleuronă şi picături de ulei gras.

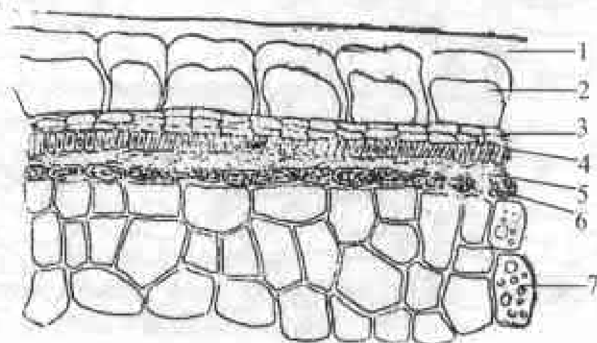


***Fig. 9.* Secţiune transversală prin sământa de in:** *1* – cuticulă; *2* – celule cu mucilagiu ale epidermei; *3* – strat parenchimatic al tegumentului; *4* – celule scleroase; *5* – strat nutritiv; *6* – strat pigmentat; *7* – endospermul seminţei

MALVAE FLORES – flori de nalbă-de-pădure

Planta producătoare: ***Malva silvestris*** L.– nalbă-de-pădure

Fam. **Malvaceae**

Caractere macroscopice: flori specifice malvaceelor, cu receptacul puțin convex, caliciu dublu: extern – din 3 sepale lanceolate, pubescente, intern – din sepale sudate, pubescente. Corola din 5 petale obcordate, la bază cuneate, libere. Androceul este concrescut la bază cu piesele corolei. Anterele staminelor biloculare. Ovarul discoidal, pluricarpelar, gineceul apocarpic. Diametrul florilor 5 cm. Florile proaspete roz-violacee cu numeroase nervațiuni violete, iar după uscare albastre. Produsul este lipsit de miros, gustul mucilaginos.

MALVAE FOLIA – frunze de nalbă-de-pădure

Planta producătoare: ***Malva silvestris*** L. – nalbă-de-pădure

Fam. **Malvaceae**

Caractere macroscopice: frunze pețiolate, cu 3-7 lobi, semicirculari, lungimea 11 cm, lățimea 15 cm. Baza frunzelor rotundă sau cordiformă, iar marginea lobilor crenată.

Caractere microscopice: secțiunea transversală se aseamănă mult cu cea de *Althaeae folia*, în mezofil sunt prezente druze de oxalat de calciu.

PLANTAGINIS FOLIA – frunze de pătlagină

Plante producătoare: ***Plantago major*** L. – pătlagină-mare; ***P. media*** L. – pătlagină-medie; ***P. lanceolata*** L. – pătlagină-lanceolată

Fam. **Plantaginaceae**

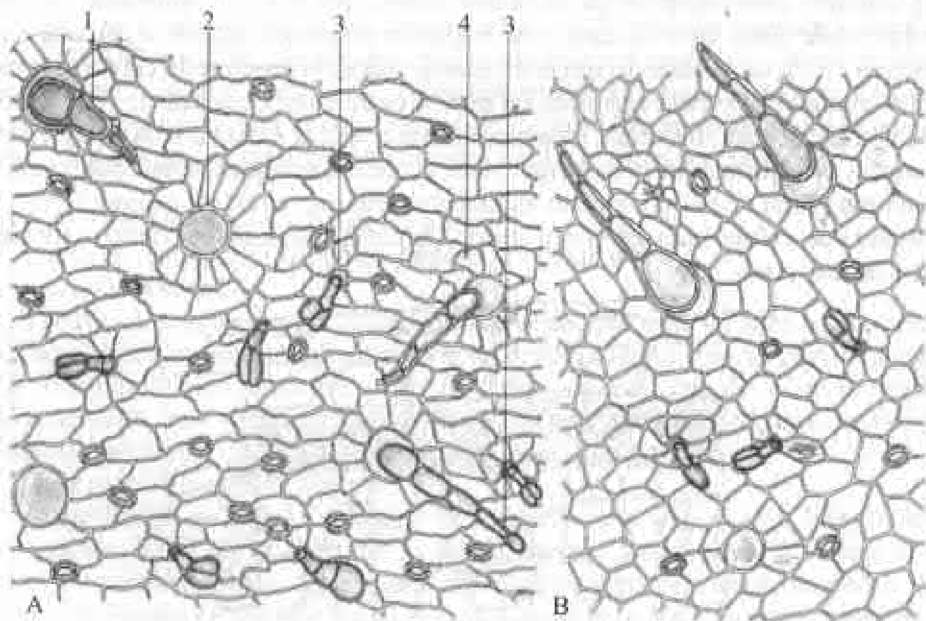


Fig. 11. **Preparat superficial din frunza de pătlagină-mare (x280):**
A – epidermă inferioară; *B* – epidermă superioară. *1* – păr tector pluricelular; *2* – locul fixării perișorului; *3* – păr glandular; *4* – cuticulă striată

Caractere macroscopice. *Plantago major* – frunze lat-ovale, lungimea 20-25 cm, lățimea 8-10 cm, pețiol lung, în formă de jgheab, lățit la bază, cu 5-9 nervuri arcuate, la locul de rupere apar ca niște fire de ață. Culoarea verde sau verde-deschis, fără miros, gust amărui.

Plantago lanceolata – frunze lanceolate, lungimea 10-15 cm, lățimea 2-3,5 cm, pețiolul subțire în formă de jgheab cu 3-4 nervuri paralele.

Plantago media – frunze eliptice, lungimea 10-12 cm, lățimea 3-4 cm, pubescente pe ambele fețe (ceea ce determină culoarea produsului vegetal – verde-gri), pețiolul scurt, lățit la bază, în formă de jgheab, cu 7-9 nervuri paralele.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunza de pătlagină-mare *(fig. 11)*. Epiderma e formată din celule cu pereții sinuoși, cuticula fin striată. Peri tectori și glandulari. Perii tectori pluricelulari, cei glandulari cu picior monocelular și glandă bi- sau pluricelulară, ovală, alungită. În locul fixării perilor celulele epidermei formează o rozetă.

TILIAE FLORES – flori de tei

Planta producătoare: ***Tilia cordata*** Mill – tei-pucios (tei-roșu)

Fam. **Tiliaceae**

Caractere macroscopice: inflorescențe cimoase cu bractee din 5-15 flori desfăcute (în produsul vegetal se întâlnesc uneori boboci florali și fructe solitare imature). Bracteele peliculare, cu lungimea de 6 cm, alungit-eliptice cu vârful rotunjit, concrescute pe jumătate din lungimea axului floral. Flori cu corola din 5 petale, bisexuate, în diametru circa 1 cm. Sepale ovate, alungit-ovate, pe partea interioară și pe margini pubescente, culoarea verde-deschisă. Petalele corolei ovate, glabre, galbene-deschise, galbene, mai lungi ca sepalele. Stamine numeroase, prevăzute cu 2 antere galben-deschise și filamente subțiri, dispuse în 5 fascicule. Gineceul cu stil lung și stigmat penta-lobat. Ovar superior, sferic, abundent pubescent. Fructe – nucule, de circa 2 mm în diametru, galben-verzui. Miros slab, plăcut, gust mucilaginos, slab astringent.

Caractere microscopice: în preparate superficiale se pot observa celule cu mucilagiu, cu druze mici de oxalat de calciu, peri tectori unicelulari, cu vârful curbat pe suprafața ovarului.

TRAGACANTHA – produs de exsudație obținut de la diferite specii de *Astragallus (A. gummifera)*

Fam. **Fabaceae**

Caractere macroscopice: fragmente turtite, vermiculare, adesea încovoiate în formă de seceră sau de plăci neregulate, lungimea 7 cm și lățimea până la 2 cm, cu striații curbate sau ondulate. Produsul are culoare albă sau alb-gălbuie, fără miros, gustul mucilaginos.

TUBER SALEP – tuberculi de salep

Plante producătoare: diverse specii din genurile ***Orchis*** – poroinic; ***Platanthera*** – vioreaua-nopții; ***Gymnadenia*** – ură; ***Anacamptis*** – anacamptis

Fam. **Orchidaceae**

Caractere macroscopice: tuberculii pot fi ovali, oviformi, în formă de șiret. Există tuberculi di-tri-lobați și di-penta-separați "palmati", puțin turtiți. La extremita-

tea superioară a tuberculului se observă un mugure sferoidal mic. Tuberculii sunt tari, grei, abia străvezii, puţin zbârciţi sau netezi. Culoarea galbenă-deschisă sau galbenă-surie. Gustul mucilaginos, la rumegare dulciu; mirosul specific, neplăcut, produsul vegetal uscat, fără miros.

Caractere microscopice: pulberea se examinează în soluţie de cloralhidrat, fără încălzire *(fig. 12)*. Se observă mult clei de amidon în formă de bulgăraşi de diferită formă, mai rar se întâlnesc granule de amidon ovale sau rotunjite, mari (20-25 μm), cu centrul de stratificare abia vizibil. La încălzirea preparatului se observă cristale de oxalat de calciu în formă de rafide. Ţesutul de bază din celule măşcate cu amidon, mucilagiu şi cristale. Vasele lemnoase reticulare, poroase, inelate, spiralate, în grupuri şi solitar; filamente puţine. Prezenţa mucilagiilor poate fi demonstrată prin reacţia cu tuş sau cu alt reactiv. În soluţie de iod se obţine o coloraţie combinată – pentru amidon şi mucilagiu.

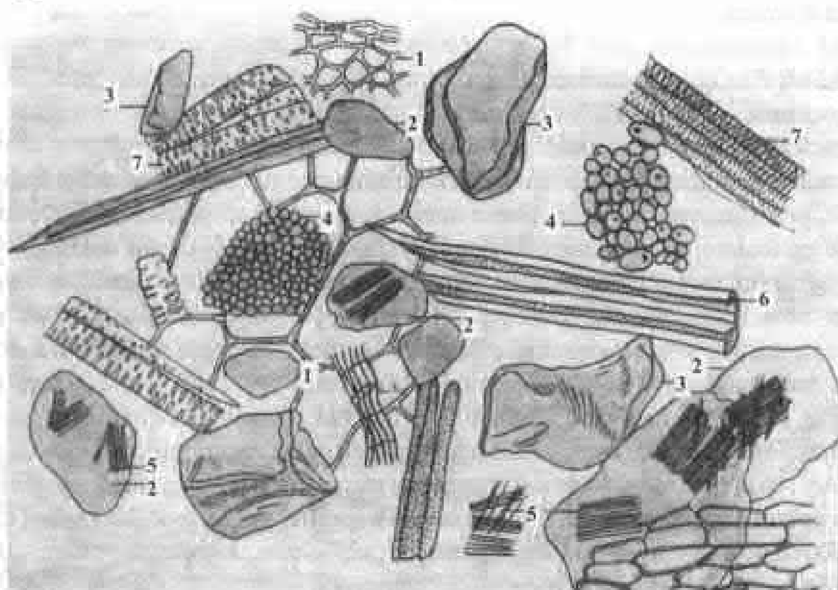


***Fig. 12.* Elementele pulberii din tubercul de salep (x280):**
1 – suber; *2* – celule cu mucilagiu; *3* – clei de amidon; *4* – granule de amidon;
5 – rafide de oxalat de calciu; *6* – fibre mecanice; *7* – vase lemnoase

VERBASCI FLORES – flori de lumânărică

Plante producătoare: ***Verbascum phlomoides*** (lumânărică), ***V. thapsiforme*** (rapin), ***V. thapsus*** (corovatică), ***V. speciosum*** (cucuruz-galben)

Fam. **Scrophulariaceae**

Caractere macroscopice: flori de culoare galbenă adunate într-un racem spiciform. Corola zigomorfă (2 petale mai mici şi 3 mai mari). Staminele inegale, grupate: două anterioare mai lungi, glabre, şi trei posterioare mai scurte şi dens păroase. Mirosul uşor aromat, iar gustul dulce-mucilaginos.

Caractere microscopice: preparatul superficial se caracterizează prin prezenţa perilor tectori pluricelulari, stelaţi pe petale şi a perilor tectori unicelulari în formă de măciucă pe stamine. Granulele de polen sunt sferice sau triedrice cu exină netedă.

3.1.2. Analiza chimică

Obținerea. Glucidele simple pot fi extrase din materialul vegetal cu apă caldă sau rece, în funcție de gradul de solubilitate. Extractul este supus, în continuare, unor operații de decolorare, concentrare și cristalizare. În cazuri speciale se aplică metode specifice pentru obținerea unei anumite oze sau ozide, ținând cont și de particularitățile materialului vegetal, ce constituie materia primă.

Reacții microchimice. La tratarea secțiunilor sau pulberilor vegetale cu soluție Lugol, granulele de amidon din interiorul celulelor se colorează în albastru. Dacă celulele conțin prea mult amidon, iar soluția Lugol este prea concentrată, atunci preparatul se colorează în albastru-intens sau chiar în negru. Pentru o bună observare la microscop, soluția *Lugol* se va dilua, în mod convenabil.

Mai specifică este folosirea reactivului *Steinmetz*. Acesta colorează granulele de amidon în violet pal, iar datorită acțiunii sale clarificante asigură conturarea clară a granulelor de amidon, cu hilul și straturile amilogene vizibile, lucru mai greu de observat în cazul utilizării soluției Lugol.

Toate *pectinele* se colorează în roșu cu soluția amoniacală de clorură de ruteniu și în violet cu clorura de orcina.

Mucilagiile sunt coagulate în țesuturi la aplicarea acetatului de plumb, alaunului, sulfatului de zinc sau a clorurii de mercur. Mucilagiile de origine pectică se colorează în roșu cu ruteniu, iar cele din Malvaceae în azuriu cu albastru de metilen.

Mucilagiile din semințe de in se colorează, de asemenea, în albastru-azuriu cu soluția 10 % de sulfat de cupru în hidroxid de potasiu.

Identificarea amidonului și agar-agarului

a) **Proba fierberii cu apă.** 0,5 g amidon și 0,5 g agar-agar se fierb separat în 50 ml de apă, timp de 2 minute, în pahare *Berzelius* de 150 ml. Amidonul formează un lichid opac, albicios, care în timp se separă în două straturi: inferior sub formă de precipitat alb, floconos, și superior, incolor și limpede. *Agar-agarul* formează o soluție care la răcire se transformă într-un gel vâscos, incolor și transparent, stabil în timp.

b) **Proba cu iod-iodurat diluat.** Fiecare din soluțiile coloidale obținute anterior se tratează la rece cu câte o picătură de iod-iodurat diluat. Soluția coloidală de amidon se colorează în albastru. Gelul de agar-agar nu reacționează cu reactivul, soluția obținută având culoare galben-brună.

Determinarea factorului de îmbibare pentru produse vegetale cu mucilagii. Prin factor de îmbibare se înțelege volumul total, în ml, pe care-l ocupă 1 g de produs vegetal, după îmbibare cu apă sau cu un alt solvent, la temperatura camerei. În prealabil se va umecta produsul cu alcool sau acetonă. Determinarea se face într-un cilindru gradat de 25 ml cu dop rodat.

Tehnica de lucru: 1 g produs vegetal pulverizat se introduce într-un cilindru gradat, se umectează cu 1 ml alcool sau acetonă și se adaugă 25 ml apă. Se agită puternic timp de 60 minute: primele 4 agitări la intervale de 5 minute și apoi din 10 în 10 minute până la 60 minute. Se lasă în repaus 5 ore la temperatura camerei, după care se citește volumul ocupat de produsul vegetal. Pentru stabilirea factorului de îmbibare se calculează valoarea medie a trei determinări raportate la 1 g produs vegetal.

Valorile factorului de îmbibare pentru unele produse vegetale:

- *Althaeae folia:* cel puțin 10;
- *Althaeae radices:* cel puțin 10;
- *Lini semina:* cel puțin 4;

– *Tiliae flores:* cel puţin 15.

Identificarea cromatografică a monomerilor glucidici dintr-un hidrolizat de mucilagii

Soluţia de analizat: mucilagiul (1g) se supune unei hidrolize acide cu H_2SO_4 4%, prin refluxare pe baia de apă (90 minute), hidrolizatul rezultat neutralizându-se cu carbonat de bariu.

Soluţii etalon: soluţii metanolice 1 % acid glucuronic, acid galacturonic, arabinoză, xiloză, ramnoză, fructoză, glucoza, galactoză.

Faza staţionară: silicagel G.

Faza mobilă: n-butanol:acid acetic:apă (4:1:5).

Distanţa de migrare: 10 cm.

Timp de migrare: 45 minute.

Revelare: pulverizare cu reactiv timol-acid sulfuric, urmată de încălzire în etuvă la 110 °C, timp de 5 minute.

Rezultate: se obţin spoturi colorate de la roz la violet: glucoză R_f = 0,35; galactoză R_f = 0,31; arabinoză R_f = 0,37; xiloză R_f = 0,45; ramnoză Rf = 0,52; acid galacturonic R_f =0,17; acid glucuronic Rf = 0,21.

Dozarea mucilagiilor brute din *Lini semina*. Ca urmare a complexităţii şi neomogenităţii chimice a poliuronidelor, nu se cunosc metode de dozare cu grad satisfăcător de precizie. Mai comod pot fi determinate cantitativ, pe cale gravimetrică, însă precizia metodei este periclitată de interferarea poliuronidelor cu alte substanţe macromoleculare.

10 g pulbere de seminţe de in se supun extracţiei timp de 1 oră, prin agitare, la temperatura camerei, cu 50 ml de apă distilată. Soluţia extractivă se filtrează printr-un filtru de tifon. Reziduul se presează, apoi se supune extracţiei cu aceeaşi cantitate de apă, timp de 1 oră. Filtratele reunite se concentrează la cald până la 1/4 din volumul iniţial.

Într-un pahar *Berzelius* de 250 ml se prepară 100 g alcool metilic acidulat cu acid acetic 1 %. Concentratul mucilaginos se toarnă în fir subţire peste metanolul acidulat, sub agitare. Se observă precipitarea mucilagiilor. Amestecul se lasă în repaus până la depunerea precipitatului mucilaginos. Lichidul se decantează, iar precipitatul se separă prin filtrare în vid, apoi se spală de câteva ori cu metanol. Mucilagiile separate se usucă în exsicator în vid.

Metoda este valabilă şi pentru alte produse vegetale. Poate fi adaptată şi pentru determinarea cantitativă a mucilagiilor (gravimetrică). În acest scop, materialul vegetal, exact cântărit, se supune unor extracţii succesive, prealabile, în eter de petrol, cloroform, metanol (pentru îndepărtarea componentelor extractibile în aceşti solvenţi). În final, după separare, purificare (prin dizolvări şi reprecipitări) şi uscare, mucilagiul se cântăreşte exact.

3.2. Produse vegetale cu conţinut de lipide

Definiţie

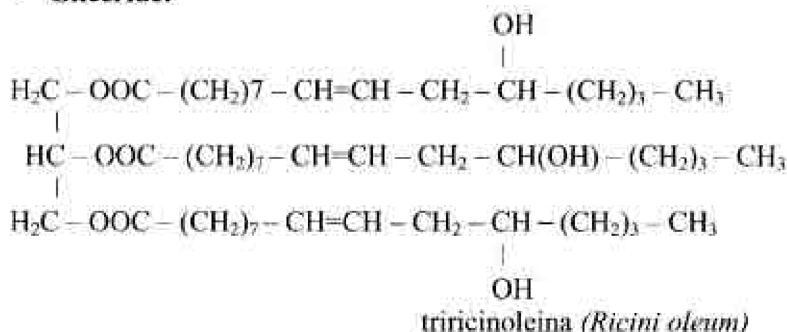
Lipidele sau uleiurile grase *(Oleum)* sunt amestecuri de substanţe naturale, vegetale sau animale, considerate componente fundamentale ale celulelor vii cu rol plastic şi energetic.

Din punct de vedere chimic sunt esteri ai acizilor grași saturați, nesaturați sau a hidroxiacizilor grași. Mai conțin acizi grași liberi și substanțe de altă natură ce alcătuiesc insaponificabilul.

În funcție de complexitatea compoziției, lipidele se clasifică în: lipide simple (gliceride, ceride, steride) și complexe (glicerofosfatide, sfingolipide, glicosulfolipide).

Exemple:

- **Gliceride:**



triricinoleina *(Ricini oleum)*

- **Ceride:** palmitat de cetil (*Cetaceum*), palmitat de miricil (de triacontanol) (*Cera alba, Cera flava*).

3.2.1. Proprietăți fizico-chimice și metode de obținere

Lipidele pot fi solide sau semisolide (acizii grași din componența lor sunt saturați) și lichide (acizii grași sunt nesaturați). Pot fi sicative *(Lini oleum)* sau semisicative *(Helianthi oleum)*. Nesaturarea moleculelor poate duce la autooxidare (râncezire). Nu sunt antrenabile cu vapori de apă, se dizolvă în solvenți organici nepolari (eter, benzen, triclormetan etc).

Reieșind din compoziția complexă a lipidelor, pentru caracterizarea lor se recomandă analiza organoleptică, determinarea solubiltății și a câtorva constante, ale căror valori trebuie să se încadreze în anumite limite: densitate, indice de refracție, indice de aciditate, indice de ester, indice de saponificare, indice de iod, indice de peroxid.

Lipidele se pot obține prin presare la rece sau la cald, extracție cu solvenți organici sau prin topire și fierbere în apă.

3.2.2. Caractere macroscopice

***ADEPS LANAE ANHYDRICUS* (*CERA LANAE OVIS, CERA LANAE*)** – lanolină

Produs constituit din grăsimea obținută de pe lâna oilor (***Ovis aries*** L.), familia Ovidae.

Caractere: masă moale, vâscoasă, de culoare galbenă, galben-cenușie.

Miros specific.

AMYGDALI OLEUM – ulei de migdale

Planta producătoare: ***Amygdalus communis*** L. *var. dulcis* (syn. ***Prunus amigdalus*** Stokes *var. dulcis*) – migdal

Fam. **Rosaceae**

Se obține prin presarea la rece sau prin alte procedee din cotiledoanele semintei.

Caractere: lichid galben-străveziu cu greutatea specifică de 0,915–0,920 care constă din gliceride ale acidului oleic.

Miros specific, plăcut și gust plăcut, arzător.

CACAO OLEUM (BUTHYRUM CACAO) – unt de cacao

Planta producătoare: ***Theobroma cacao*** L. – arborele de cacao

Fam. **Sterculiaceae**

Se obține prin presarea la rece a semințelor de cacao.

Caractere: masă solidă, onctuoasă, de culoare alb-gălbuie. Punctul de topire 30-35 °C, încălzit la peste 45 °C nu se mai solidifică decât prin menținerea îndelungată la rece (5-6 °C).

Miros plăcut specific și gust de cacao.

CERA FLAVA – ceară galbenă de albine

Produs obținut din secreția hipodermică, transsudată a albinei lucrătoare, ***Apis melifica* L.**, familia Apidae, folosită pentru construirea fagurilor. Prin topirea fagurilor în apă, la fierbere, ceara se adună la suprafață și se separă.

Caractere: plăci sau masă galbenă, cu fractură mată, granuloasă.

Fără gust, cu miros caracteristic, plăcut, de fagure.

CERA ALBA – ceară albă

Produs obținut prin albirea cerii galbene la soare.

Caractere: plăci sau discuri de culoare albă sau alb-gălbuie, cu aspect uniform, fractură cristalină.

Nu prezintă gust amar, mirosul este plăcut.

HELIANTHI OLEUM – ulei de floarea-soarelui

Planta producătoare: ***Helianthus annuus*** L. – floarea-soarelui

Fam. **Asteraceae**

Se obține din semințe prin presarea la cald, la rece și centrifugare.

Caractere: lichid limpede, galben-deschis. Uleiul rafinat este lipsit de miros. Ușor solubil în solvenți organici lipofili și puțin solubil în alcool.

Gust dulceag și miros slab, caracteristic.

JECORIS ASELLI OLEUM (MORRHUAE OLEUM) – untură de pește

Se obține din ficatul proaspăt al peștelui ***Gadus morrhua*** L.

Caractere: lichid vâscos, galben-deschis sau roșiatic, cu reacție slab acidă.

Gust și miros de pește.

LINI OLEUM – ulei de in

Planta producătoare: ***Linum usitatissimum*** L. – in

Fam. **Linaceae**

Se obține prin presarea la rece a semințelor de in.

Caractere: lichid dens, transparent, galben-auriu. Este un ulei sicativ, gust dulceag și miros specific.

OLIVAE OLIUM (OLIVARUM OLEUM) – ulei de măsline
Planta producătoare: ***Olea europaea*** L. – măslin
Fam. **Oleaceae**
Se obține prin presarea la rece și centrifigare sau prin alte procedee mecanice din fructele mature de măslin.
Caractere: lichid galben cu nuanță verzuie. Nu este sicativ. Gustul dulce, mirosul plăcut.

RICINI OLEUM – ulei de ricin
Planta producătoare: ***Ricinus communis*** L. – ricin
Fam. **Euphorbiaceae**
Se obține prin presarea la rece a semințelor decorticate de ricin.
Caractere: lichid vâscos, aproape transparent sau gălbui, gust și miros specific.

SESAMI OLEUM – ulei de susan
Planta producătoare: ***Sesamum indicum*** D.C., ***Sesamum orientale*** L. – susan
Fam. **Pedaliaceae**
Se obține prin presarea la rece a semințelor de susan.
Caractere: lichid slab vâscos, galben-deschis care se solidifică într-o masă uleioasă la temperatura 4 °C.
Fără miros (uneori aromat-dulciu, amintește mirosul de nucă), gustul plăcut.

SOJAE OLEUM – ulei de soia
Planta producătoare: ***Glycine max*** (L.) Merr (syn. ***Soja hispida*** L.) – soia
Fam. **Fabaceae**
Se obține prin presarea semințelor plantei de soia.
Caractere: lichid de culoare galben-deschis, străveziu.
Miros specific, gust asemănător uleiului de nucă.

3.2.3. Analiza chimică

Identificarea unor componente din uleiurile grase prin CSS
Soluții de analizat: se dizolvă câte 0,10 g *Cacao oleum, Helianthi oleum, Lini oleum, Ricini oleum* în 10 ml cloroform.
Soluții martor: se dizolvă câte 0,02 ml acid oleic, acid palmitic, acid stearic, sitosterol și trioleină în 10 ml cloroform.
Faza staționară: silicagel G.
Faza mobilă: toluen:acetat de etil (9:1).
Distanța de migrare: 10 cm.
Timpul de migrare: 30 minute.
Revelare: pulverizare cu vanilină sulfurică.
Rezultate: după revelare la rece, gliceridele, total sau parțial nesaturate, precum și sterolii, dau spoturi vișinii, excepție fac ricinoleinele care se colorează tot în cenușiu. După încălzire timp de 6 minute la 110 °C, toate spoturile devin cenușii-violete, cu excepția ricinoleinelor, care se colorează în brun.

Determinarea cantitativă a lipidelor din produse naturale

În principiu, lipidele se extrag cu ajutorul aparatului *Soxhlet*, cu un solvent lipofil (eter de petrol). Cantitatea de lipide extrase se raportează la cantitatea de produs natural luat în lucru şi se exprimă procentual.

Aparatul *Soxhlet* realizează o extracţie repetată, la rece, cu aceeaşi cantitate de solvent.

Tehnica de lucru: balonul aparatului, în stare uscată cu câteva fragmente de porţelan poros, se cântăreşte exact. Din produsul ce conţine lipide, mărunţit în prealabil, se cântăresc 10,000-25,000 g. În paralel se determină umiditatea produsului. Dacă produsul este prea moale şi se aglomerează excesiv, se va amesteca, într-un mojar, cu o cantitate egală sau dublă de nisip calcinat. Produsul se închide într-un cartuş filtrant şi se introduce în extractorul aparatului. Montat deasupra balonului, extractorul cu eter de petrol anhidru până ce sifonează şi apoi se umple încă pe jumătate. Se montează refrigerentul şi se instalează aparatul pe baia de apă, asigurând o viteză de lucru de 6-8 sifonări (extrageri) pe oră. Extracţia se consideră terminată când 1-2 picături de solvent din extractor, aduse cu o pipetă pe o sticlă de ceas şi evaporate, nu lasă o pată grasă.

Eterul de petrol se îndepărtează prin distilare sau evaporare la rotavapor. Balonul se plasează în etuvă, la 105 °C, până la o greutate constantă sau până când greutatea produsului începe să crească.

Conţinutul de lipide (x) se calculează după formula:

$$x = (a - b)\ 100\ \ 100 / c \times (100 - H),$$

în care: *a* – masa balonului cu lipide (la sfârşitul determinării) (g); *b* – masa balonului gol (la începutul determinării) (g); *c* – cantitatea de produs natural luat în lucru (g); *H* – umiditatea produsului (%).

3.3. Produse vegetale cu conţinut de vitamine

Definiţie. Vitaminele reprezintă substanţe ale metabolismului secundar vegetal necesare pentru evoluţia normală a proceselor metabolice din organism. Majoritatea vitaminelor intră în componenţa enzimelor (fermenţilor), fiind coenzimele lor.

Clasificare. În timp, nomenclatura vitaminelor s-a efectuat după mai multe criterii:

- la descoperire vitaminelor li se dădea denumire cu litere din alfabetul latin (A, B, C, C, E, F, etc), iar în interiorul aceleiaşi grupe cu indici numerici (A_1, B_1, B_2, B_6, B_{12}, D_6 etc). Clasificarea alfabetică nu reflecta însă nici proprietăţile biologice, nici structura chimică a acestora
- clasificarea după solubilitatea lor (liposolubile – A, D, E, K, F şi hidrosolubile – B, C, P, PP etc.)
- după rolul fiziologic în organismul uman: antixeroftalmică (vitamina A), antirahitică (vitamina D), antihemoragică sau coagulantă (vitamina K), antisterilică (vitamina E) etc.
- după structura chimică: tiamină (B_1), riboflavină (B_2), piridoxină (B_6), acid ascorbic (C). S-a constatat că vitaminele se referă la diferite clase de compuşi organici. Astfel, deosebim: vitaminele seriei: 1) alifatice (C, B_3, F etc.); 2) aciclice (A, D etc.); 3) aromatice (grupa K); 4) heterociclice (E, P, PP, B_1, B_2, B_6, B_{12}).

3.3.1. Caractere macro- şi microscopice

BIDENTIS HERBA – părţi aeriene de dentiţă
Planta producătoare: ***Bidens tripartita*** L. – dentiţă
Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: tulpini subţiri (2-3 mm în diametru), fragmente până la 15 cm lungime cu 4 muchii rotunjite, verzi-deschise, nodurile cu nuanţă purpurie-violetă. Frunze tripartite, verzi-închise, opuse, îngustate într-un peţiol cu baza dilatată. Lobii frunzei lanceolaţi, dinţaţi, lobul mijlociu mai mare, uneori penat-sectat, unele frunze mari, cu lungimea de până la 10-15 cm. Calatidiile, în diferite faze de dezvoltare, solitare sau grupate mai multe în vârful tulpinii, cu involucru dublu. Bracteele exterioare verzi, filiforme, cele interioare – mai scurte, galbene-verzui. Fructul – achenă cu 2 vârfuri, acoperită cu fire aspre.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunze *(fig. 13)*. Celulele epidermelor au pereţii sinuoşi. Stomatele sunt prezentate pe ambele părţi ale frunzei, pe cea inferioară – mai multe, înconjurate de 3-5 celule anexe. Cuticula pe marginea frunzei şi pe nervuri striată. Perii pluricelulari, de două tipuri. Unii constau din 9-12 (până la 18) celule scurte, cu membrane subţiri, la bază cu o celulă mare alungită, acoperită cu o cuticulă striată. Celulele perilor sunt umplute, de obicei, cu un conţinut gălbui. Ei sunt îndoiţi spre suprafaţa frunzei, aproape lipiţi de ea, cu aspect de omidă. Se întâlnesc pe ambele feţe ale frunzei, fiind mai numeroşi pe nervuri. Perii de tipul al doilea sunt cu mult mai mari şi constau din celule cu membrane groase. Baza este pluricelulară, celulele fiind dispuse în 2-3 rânduri, iar celula terminală ascuţită. Suprafaţa perilor cu striuri longitudinale ale cuticulei. Acest tip de peri se întâlnesc pe marginea frunzei (mai scurţi din 2-5 celule) şi pe nervurile mari (din 9-13 celule). În mezofilul frunzei, aproape de nervuri, se află canale secretoare cu un conţinut cenuşiu-gălbui. Ţesutul lacunar al frunzei este foarte poros, având aspect de aerenchim.

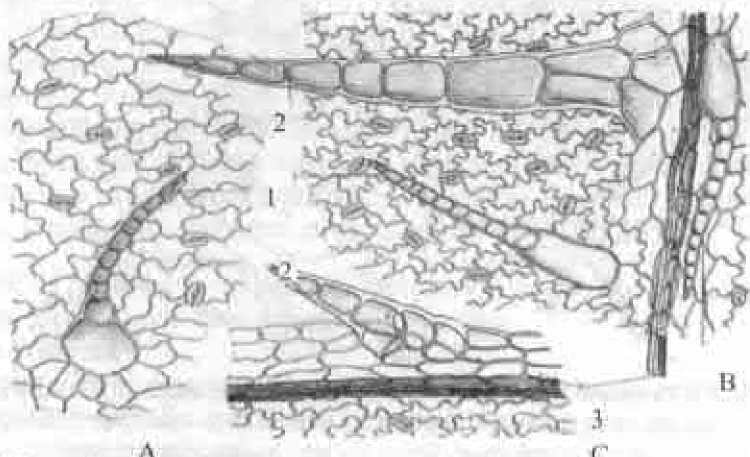


Fig. 13. **Preparat superficial al frunzei de dentiţă (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *C* – marginea frunzei. *1* – peri cu pereţii celulari subţiri; *2* – peri cu pereţii celulari groşi; *3* – canale secretoare

BURSAE PASTORIS HERBA – părţi aeriene de traista-ciobanului
Planta producătoare: ***Capsella bursa pastoris*** (L.). Medic. – traista-ciobanului
Fam. **Brassicaceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din părţi aeriene ale plantei – tulpini cu frunze, flori şi fructe cu diferit grad de maturizare. Tulpinile au lungimea de 20-40 cm, suprafaţa muchiată, slab pubescentă. Frunzele de la bază alungit-lanceolate, îngustate la peţiol, pe margine cu adâncituri dinţate sau penat-crestată în lobi triunghiulari. În produsul vegetal frunzele bazale prevalează. Frunzele tulpinale sunt mici, rare, alterne, sesile, lanceolate, adesea cu baza sagetată, marginea întreagă (cele inferioare cu incizii dinţate). Florile mici, albe, grupate în racem. Sepalele şi petalele în număr de 5, stamine 6, pistil 1. Fructul – siliculă turtită invers-triunghiulară cu o adâncitură la vârf, în centrul adânciturii se observă restul stilului.

Culoare verde-cenuşie, gust amărui, miros slab.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 14)*. Celulele epidermei sunt mici, cu membrane subţiri, pe partea superioară cu conturul slab sinuos, pe cea inferioară – pronunţat sinuos. Stomatele, dispuse pe ambele părţi, pe partea inferioară în număr mai mare, sunt mici, înconjurate de 3 celule, dintre care una este cu mult mai mică decât celelalte, trăsătură caracteristică pentru speciile familiei Brassicaceae. Pe ambele părţi ale frunzei sunt numeroşi peri unicelulari clasificaţi în: 1) ramificaţi (cu 3-6, mai rar 7, radii), cu suprafaţa verucoasă; razele perilor lipite pe suprafaţa frunzelor şi tulpinilor; se întâlnesc într-un număr mare pe toată suprafaţa frunzelor, de ambele părţi; 2) peri tectori foarte mari, cu baza lată şi vârful îngust, ascuţit, membrana subţire, suprafaţa netedă sau puţin verucoasă; 3) peri bifurcaţi, cu raze proeminente pe suprafaţa frunzei. Astfel de peri sunt puţini şi se întâlnesc pe nervura frunzei şi pe margine.

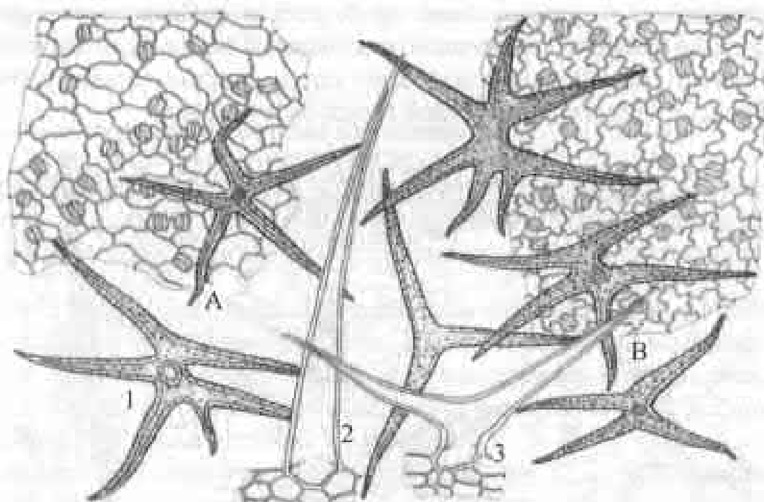


***Fig. 14.* Preparat superficial din frunză de traista-ciobanului (x280):**
A – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară. *1* – peri pluriradiari, *2* – păr tector unicelular, liniar; *3* – peri bi-, tri- şi tetrafurcaţi

CALENDULAE FLORES – flori de gălbenele

Planta producătoare: ***Calendula officinalis*** L. – gălbenele

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: calatidii mari, până la 5 cm în diametru, adesea cu resturi de pedunculi cu lungimea de circa 3 cm. Involucru semisferic, turtit, format din

1-2 rânduri de bractee liniare, la vârf ascuţite, de culoare cenuşie-verzuie, pubescente, cu nervura centrală întunecată şi margine peliculară semistrăvezie. Receptaculul gol, plat sau slab convex. Florile marginale ligulate, numeroase, aşezate în 2-3 rânduri la formele nebătute şi până la 15 rânduri la cele bătute. Ele sunt lanceolate, cu trei dinţi, tubul îndoit, acoperit cu peri scurţi şi îndoitura lungă (de două ori mai lungă decât involucru). Culoarea florilor ligulate portocalie, roşie-portocalie, galbenă-portocalie sau galbenă. Florile centrale tubuloase, cu 5 dinţi, galbene-portocalii, galbene, cu lungimea de până la 3-5 mm. Fructul – achenă în formă de luntre sau de inel.

Miros slab aromat, gust amar-sărat.

Caractere microscopice: petalele au epidermă cu papile, peri tectori pluricelulari, numeroşi peri glandulari, pluricelulari. În parenchim se găsesc granule de inulină şi cromoplaste portocalii.

GNAPHALII ULIGINOSI HERBA – părţi aeriene de albumeală

Planta producătoare: ***Gnaphalium uliginosum*** L. – albumeală

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din plante întregi cu rădăcini. Tulpinile cilindrice, subţiri, drepte, cu ramificaţii de la bază, cu multe frunze şi flori, uneori cu fructe. Lungimea tulpinilor 5-20 cm. Frunzele alterne (lungimea 0,4-2,5 cm, lăţimea 1-4 mm), alungit-lanceolate, aproape liniare, la vârf bonte, îngustate la bază într-un peţiol scurt. Frunzele şi tulpinile pubescente, cu aspect de pâslă albă. Inflorescenţele formează în vârful ramurilor glomerule nu prea mari din 4-10 calatidii mici. La inflorescenţe aderă frunzele de la vârf adunate sub formă de rozetă. Calatidiile sunt aproape sferice, cu un diametru de 3-4 mm, şi involucru din mai multe rânduri de bractee lanceolate, peliculare, pe margine cafenii, imbricate; partea superioară a bracteelor este glabră, lucitoare, cea de jos – pubescentă. Flori tubuloase cu 5 dinţi, galbene-verzui, mici, nu întrec în lungime involucrul, prevăzute cu rostru. Fructul achenă.

Miros slab, specific, gust puţin sarat.

Impurificări posibile. Rosmarin de munte (*Gnaphalium silvaticum* L.) cu tulpina slab ramificată, lungă de 30-40 cm. Calatidiile grupate în inflorescenţe spiciforme. Ovarul păros. Flocoşele (*Filago arvensis* L.) are tulpină ramificată, cu lungimea de 15-25 cm, abundent pubescentă, calatidiile grupate în glomerule nu numai la vârful ramurilor, dar şi la axila frunzelor superioare. Involucru format din 2 rânduri de bractee peliculare, tomentoase, de culoare albă, fără dungă cafenie.

CROCI STIGMATA – stigmate cu resturi de stiluri ale florilor de şofran

Planta producătoare: ***Crocus sativus*** L. – şofran

Fam. **Iridaceae**

Caractere macroscopice: filamente roşii-portocalii, cu marginea superioară dilatată, crenelată. Stigmatele uşoare, flexibile, catifelate, roşii-portocalii.

Miros aromat, gustul amar.

Caractere microscopice: epidermă cu papile mici, scurte, tubulare, parenchim cu celule alungite, subţiri, cu cromoplaste galbene.

HIPPOPHAES FRUCTUS – fructe de cătină

Planta producătoare: ***Hippophae rhamnoides*** L. – cătină

Fam. **Elaeagnaceae**

Caractere macroscopice: fructul este o drupă cu suprafaţa cutată, care la înmuiere devine sferică, oval-sferică sau ovală, lungimea 8-10 cm, diametrul 3-6 mm, epicarpul subţire. Suprafaţa glabră, lucitoare, portocalie, roşiatică sau galbenă-roşiatică. Miezul aromat plăcut, dulce-acriu. Endocarpul alungit-ovat sau elipsoidal-alungit, lungimea 4-7 mm, diametrul circa 5 mm, lucitor, neted, cafeniu-închis.

MAYDIS STILY ET STIGMATA – stiluri şi stigmate (mătase) de porumb
Planta producătoare: ***Zea mays*** L. – porumb
Fam. **Poaceae**

Caractere macroscopice: produsul vegetal constă dintr-o masă de fibre încâlcite, foarte subţiri, mătăsoase, care prezintă stiluri lungi în al căror vârf se află stigmatele bifurcate. Stilurile sunt drepte, uşor curbate sau răsucite, netede, filiforme sau în formă de fâşii cu lungimea de la 0,5 cm până la 20 cm şi diametrul de 0,1-0,15 mm. Stigmatele sunt scurte, lungimea de la 0,4 mm până la 3 mm.

Culoarea produsului vegetal poate fi cafenie-deschisă, galbenă-aurie sau roşiatică. Miros slab.

RIBIS NIGRI FRUCTUS – fructe de coacăz-negru
Planta producătoare: ***Ribes nigrum*** L. – coacăz-negru
Fam. **Saxifragaceae**

Caractere macroscopice: fructul este o bacă puternic zbârcită, cu resturi de periant la vârf (scuame peliculare cafenii, unite sub formă de con). Prin înmuiere bacele devin sferice cu diametrul de 8-10 mm. Examinate cu lupa (10x), pe suprafaţa fructelor se observă glande cu ulei volatil în formă de puncte galbene-aurii. Bacele sunt mate, negre cu nuanţe violet-întunecate; miezul cenuşiu-roşiatic cu aromă specifică, gust acru. Conţin numeroase seminţe mici, alungit-ovale, galbene-roşiatice.

ROSAE FRUCTUS – fructe de măceş
Plante producătoare: ***Rosa cinnamomea*** L.; ***R. acicularis*** Lingl; ***R. davurica*** Pall; ***R. beggeriana*** Schrenk; ***R. Fedtschenkoana*** Rgl.; ***R. canina*** L. – diferite specii de măceş
Fam. **Rosaceae**

Sunt admise spre utilizare şi alte specii care corespund prevederilor documentaţiei analitice de normare după conţinutul de acid ascorbic. Produsul vegetal poate fi sub formă de fructe curăţate şi necurăţate.

Caractere macroscopice: fructul fals de măceş reprezintă un hipantiu, format dintr-un receptacul cărnos cu multe fructe adevărate – nucule pubescente. După formă pot fi sferice sau puţin alungite, ovate şi alungit-ovate, eliptice şi fusiforme, în funcţie de specie. La vârful fructului se vede o adâncitură – urma caliciului înlăturat, uneori pe unele fructe se păstrează 5 sepale integre unite la vârf. Pereţii fructului subţiri, fragili, la exterior zbârciţi, cu sau fără luciu, în interior zgrunţuroşi de la abundenţa perilor aspri. Dimensiunile fructelor variază în funcţie de specie: lungimea 0,7-3 cm, diametrul 0,5-1,5 (1,7) cm. Culoarea roşie-portocalie, cafenie-roşiatică, cafenie-închisă, mirosul lipseşte, gustul dulce-acriu.

Produsul vegetal purificat prezintă fructe false mărunţite, bine curăţate de peri şi nucule.

Caractere microscopice: pulbere de fructe de măceş *(fig. 15)*. Însemnătate diagnostică au elementele fructului fals şi nuculelor pubescente. Peri numeroşi, unicelulari

de două tipuri, unii foarte mari, drepți, cu membrană groasă, alții mai mici, recurbați, de obicei cu membrane subțiri. În pulberea fructelor nepurificate perii sunt într-un număr mare, în produsul vegetal – mai redus.

Cel mai caracteristic pentru nucule este țesutul mecanic al pericarpului, alcătuit din sclereide cu pereții celulari puternic îngroșați, de forme diferite: unele înguste, puternic alungite, în preparat formează straturi, altele – rotunde sau tetraedrice adunate în grupe mici sau solitare. Epiderma externă a fructului fals constă din celule poligonale, cu pereți îngroșați neuniform. Fragmentele parenchimului de bază al fructului (mezocarpul) cu aspect de blocuri, conțin druze de oxalat de calciu și cromoplaste roșii-portocalii.

La fructele de *R. canina* sepalele sunt lobate, îndoite în jos și la rupere rămâne un pentaedru pătruns de numeroși pori.

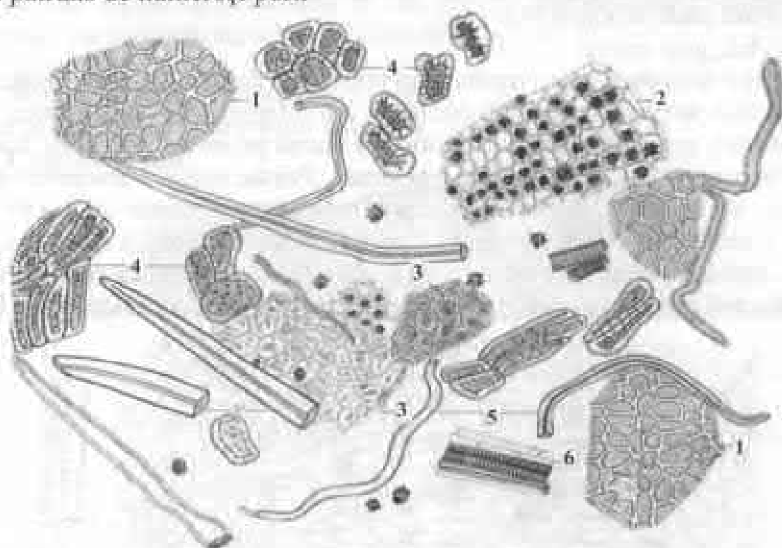


Fig. 15. **Elementele pulberii fructului de măceș (x280):** *1* – epidermă; *2* – mezocarp cu druze de oxalat de calciu; *3* – mezocarp cu cromoplaste și druze; *4* – sclereide; *5* – peri; *6* – elemente ale fasciculelor conducătoare

SORBI FRUCTUS – fructe de scoruș

Planta producătoare: ***Sorbus aucuparia*** L. – scoruș

Fam. **Rosaceae**

Caractere macroscopice: fructe de tip poamă, încrețite, la înmuiere sferice, la vârf cu resturi de caliciu, diametrul 9-10 mm. Suprafața fructului mată, portocalie-roșiatică, mezocarpul portocaliu-deschis, acru-amărui.

Conține 3 semințe, rar 2-5, netede, în formă de seceră sau alungite, la vârf ascuțite, roșiatice sau galben-roșiatice, cu lungimea de 3 mm.

TAGETES FLORES – flori de crăițe

Planta producătoare: ***Tagetes patula*** L. – crăiță

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: inflorescențele din flori centrale, tubuloase, bisexuate, cu 4-5 lobi, și flori marginale, ligulate, galben-portocalii, roșii sau brun-portocalii, cu miros aromat și gust amărui.

Caractere microscopice: în pulberea de *Tagetes flores* se evidențiază fragmente de epidermă cu papile alungite și cromoplaste portocalii. Elementele caliciului: fragmente de parenchim cu druze de oxalat de calciu și fragmente de epidermă cu peri tectori, unicelulari, ascuțiți.

URTICAE FOLIA – frunze de urzică-mare
Planta producătoare: ***Urtica dioica*** L. – urzică-mare
Fam. **Urticaceae**

Caractere macroscopice: frunze subțiri, fragile, de culoare verde închisă, ovate sau alungit-ovate, vârful acut, baza cordiformă, lung-pețiolate. Marginea frunzei regulat serată, suprafața aspră din cauza perilor vizibili cu ochiul liber, îndeosebi pe nervurile părții inferioare unde sunt mai mari.

Miros slab, gust amărui.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 16)*. Epiderma superioară din celule poligonale sau slab ondulate, cea inferioară din celule mici, cu contur sinuos. Stomatele prezente, de regulă se observă numai pe partea inferioară, sunt rotunde sau ovale, înconjurate de 3-5 celule ale epidermei. Printre celulele epidermei superioare și inferioare se întâlnesc într-un număr mare litociste – celule ce conțin cistolite, formațiuni rotunde sau ovale, adânc implântate în țesutul frunzei. Corpul cistolitei este îmbibat cu carbonat de calciu, are structură granuloasă și culoarea cenușie-închisă; în centru se observă piciorușul cistolitei în formă de cerc de culoare deschisă sau brună.

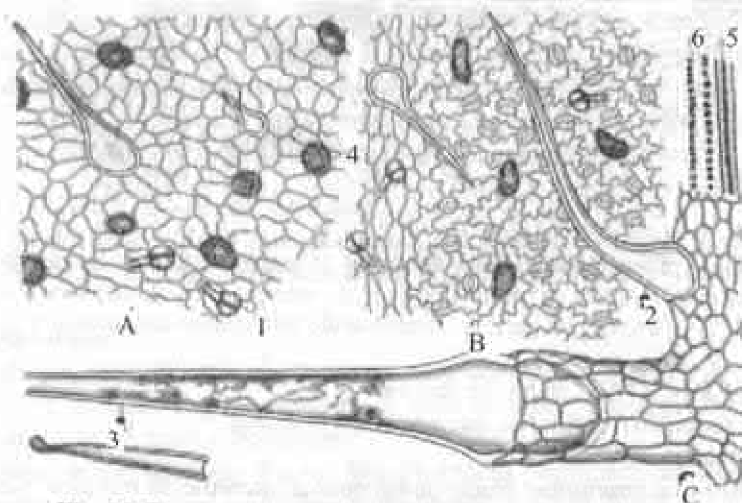


***Fig. 16.* Preparat superficial din frunza de urzică (x280):**
A – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *C* – fragment al nervurii principale.
1 – păr glandular; *2* – păr sub formă de retortă; *3* – păr urticant în soclu pluricelular; *4* – cistolite;
5 – vasele fasciculului conducător; *6* – druze cu oxalat de calciu

Perii sunt de 3 tipuri: urticanți, sub formă de retortă, și glandulari. Perii urticanți au forma de ac șcav, care se termină cu o măciulie mică rotundă. Ei sunt foarte mari, unicelulari, cu baza lată, adânciți într-un soclu din numeroase celule mici. Membrana este îngroșată și îmbibată cu carbonat de calciu și bioxid de siliciu, de aceea este foarte fragilă. Se întâlnesc mai ales pe partea inferioară a frunzei, așezați, în principal, pe nervurile mari. Vârful lor este îndreptat spre margine și spre vârful frunzei. În cavitatea părului se observă un conținut granulos, care uneori ia forma unor concrețiuni de ace mici.

Perii-retortă sunt unicelulari, au o bază dilatată şi vârful ascuţit, alungit. Sunt diferiţi după dimensiuni şi se întâlnesc peste tot, dar mai frecvent pe nervuri şi pe marginea frunzei. Celulele epidermei, în locul de fixare a perilor, formează des o rozetă.

Perii glandulari sunt foarte mici, au glandă bicelulară şi piciorușul unicelular cu membrane foarte subţiri. Se întâlnesc mai ales pe ramificaţiile mici ale nervurilor. La nivelul nervurilor mari, de-a lungul fasciculului conducător, se observă filamente de celule cu druze mici de oxalat de calciu, care formează lanţuri.

Impurificări posibile. Urzică-moartă – *Lamium album* L., fam. Lamiaceae. Frunzele lat-lanceolate, vârful acut şi peţiolul scurt. Marginea frunzei ascuţit-dinţată, dinţii neuniformi – cei mari alternează cu mai mici. Culoarea frunzelor mai deschisă, suprafaţa nu este aspră. La microscop se văd perii tectori bicelulari verucoşi şi perii glandulari mici cu o glandă unicelulară. Cistolitele lipsesc.

VIBURNI CORTEX – scoarţă de viburn
Planta producătoare: ***Viburnum opulus*** L. – călin
Fam. **Caprifoliaceae**

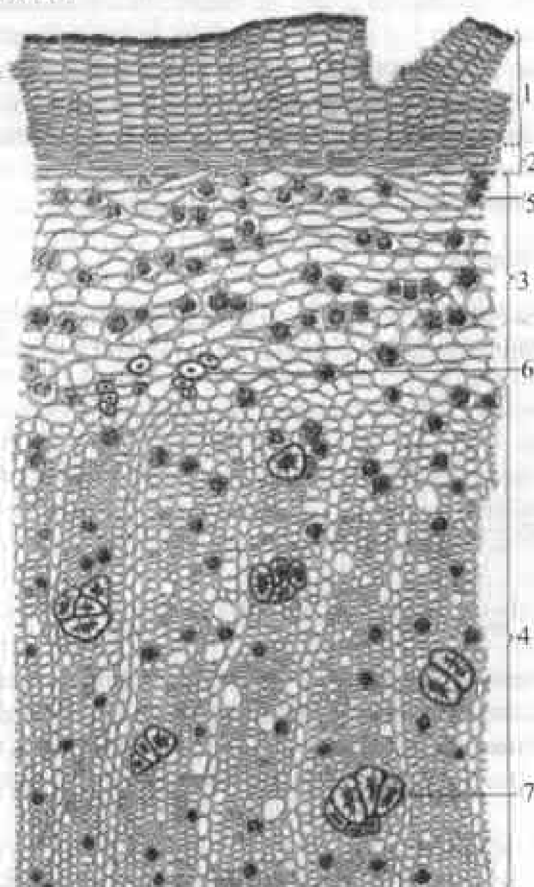


Fig. 17. **Secţiune transversală prin scoarţa de călin (x120):**
1 – suber; *2* – colenchim; *3* – scoarţă primară; *4* – scoarţă secundară; *5* – druze de oxalat de calciu; *6* – fibre liberiene; *7* – celule sclerificate

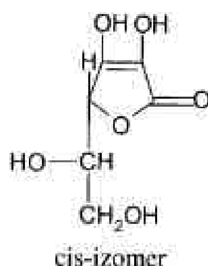
Caractere macroscopice: scoarţa tulpinilor şi ramurilor este prezentată prin bucăţi tubuloase sau aproape netede cu lungimea de 10-25 cm, grosimea 1-2 mm. Suprafaţa exterioară a scoarţei este fin striată, cu pete deschise şi lenticele. La raclarea suberului se observă colenchimul verde. Suprafaţa interioară a scoarţei este netedă, galbenă-deschisă sau galbenă, cu pete roşiatice şi lenticele. Fractura la exterior este dreaptă, în interior puţin rugoasă.

Gust astringent-amărui.

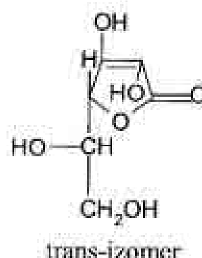
Caractere microscopice: secţiune transversală prin scoarţă *(fig. 17)*. Se evidenţiază suberul din multe rânduri de celule cu membrane subţiri (coloraţie cu sudan III) care alternează cu straturi de liber cu pereţii groşi şi membrane lignificate (coloraţie cu fluoroglucină şi acid clorhidric concentrat). Sub suber se observă 2-4 straturi de celule ale colenchimului cu clorofilă. Scoarţa primară este poroasă, din celule mari rotunde sau ovale. La frontiera dintre scoarţa primară şi cea secundară se întâlnesc, solitar sau în grupuri, fibre liberiene cu membrane groase stratificate, dar nelignificate, străbătute de pori subţiri. Scoarţa secundară din celule rotunde sau poligonale dispuse în rânduri radiale, printre care se evidenţiază grupe de celule mici – elemente conducătoare ale liberului şi raze medulare din 1-2 rânduri de celule. În unele locuri se observă celulele sclerificate foarte mari, cu membrane puternic îngroşate şi lignificate, stratificate, gălbui. În scoarţa tânără sunt foarte puţine sclereide, în cea matură – mai multe. Parenchimul scoarţei conţine granule mici simple de amidon şi picături uleioase, uneori o masă granuloasă, care se colorează în roşu-portocaliu la tratarea cu sudan III. Celulele parenchimului conţin numeroase druze de oxalat de calciu.

3.3.2. Analiza chimică

Proprietăţi fizico-chimice. *Acidul ascorbic* reprezintă acidul γ-lacton-2,3-dihidro-α-gulonic. Prezenţa legăturii duble în moleculă determină cis-, trans-izomeria.

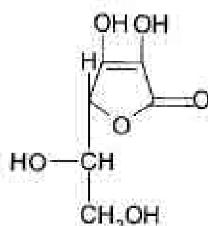


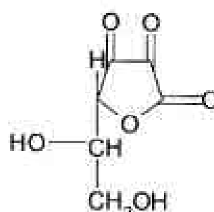
cis-izomer



trans-izomer

Acidul ascorbic este o pulbere albă cristalină, acră la gust, uşor solubilă în apă, insolubilă în solvenţi organici (eter, cloroform, benzen). Se oxidează uşor, de aceea participă în procesele de oxido-reducere:





Este o substanță instabilă, în soluții apoase se descompune ușor, iar aerul și lumina accelerează acest proces.

Carotenoidele sunt o grupă de pigmenți naturali de culoare galbenă, portocalie sau roșie. După natura chimică sunt tetraterpene ($C_{40}H_{64}$), care au în structură un lanț polienic simetric.

În plante vitaminele grupei A lipsesc, însă este prezentă provitamina A, carotenul, care sub acțiunea fermenților din organism se transformă în vitamina A. În plante carotenul se poate afla sub forma a trei izomeri: α, β și γ-caroten. Cel mai răspândit este β-carotenul.

Carotenul formează ușor peroxizi (xantofile), de aceea poate oxida diferite substanțe. Carotenoidele sunt insolubile în apă, solubile în uleiuri grase, cloroform, eter, acetonă, benzen și greu solubile în alcool, instabile la aer și lumină.

Identificare

Se utilizează diferite *reacții de identificare* și *metode cromatografice*.

Reacții de identificare pentru carotenoide:

- Reacția cu acid sulfuric concentrat: apare o colorație albastră-verzuie, care trece repede în roșu.

Tehnica de lucru: 0,005 g pulbere de *Croci stigmata* se tratează cu 2-3 ml H_2SO_4 și se agită. Lichidul se colorează în albastru-închis, care repede trece în roșu și, în final, în cafeniu-roșiatic. Apariția unei colorații roșii chiar de la început indică falsificarea produsului.

- Reacția cu hidroxid de potasiu 10 %: pulberea de *Croci stigma* tratată cu o soluție de KOH 10 % dă o colorație galbenă. Apariția unei colorații roșii-violete indică falsificarea produsului.

Identificarea acidului ascorbic în fructele de măceș *(Rosae fructus)* **prin CSS.** Se mărunțesc 0,5 g fructe de măceș, se adaugă 5 ml apă, se amestecă și peste 15 minute se filtrează. Extractul obținut se picură cu capilarul pe placa cromatografică, alături se aplică acidul ascorbic pur; placa se plasează în camera cromatografică cu sistemul de solvenți acetat de etil-acid acetic glacial (80:20). După cromatografierea timp de ~20 minute (parcursul solventului e de ~13 cm), cromatograma se usucă la aer.

Cromatograma se tratează cu soluție de 2,6-diclorfenolindofenolat de sodiu 0,04 % (sau 0,001 N) în apă. Acidul ascorbic se identifică sub formă de spot alb pe fond roz.

Identificarea carotenoidelor în fructele de scoruș *(Sorbi fructus)* **prin CSS.** Într-un balon cotat de 25 ml se introduc 1 g fructe de scoruș mărunțite și se adaugă 5 ml de cloroform. Se lasă pentru 1,5 ore, apoi se filtrează și extractul obținut se picură cu capilarul pe sticlă, alături se aplică martorul – β-carotenul. Placa se plasează în camera cromatografică cu sistemul de solvenți ciclohexan-eter (80:20). Cromatografierea durează ~20 minute (parcursul solventului ~13 cm). După aceasta cromatograma se usucă la aer.

Cromatograma se tratează cu soluție de acid fosfomolibdenic 10 % în alcool etilic. După încălzirea plăcii la temperatura 60-80 °C carotenoidele se developează sub formă de spoturi albastre pe fond galben-verzui.

Identificarea helenienei din *Tagetes flores* prin CSS.

Soluția de analizat: 0,05 g pulbere de *Tagetes flores* se tratează cu 2-3 ml eter de petrol, după care se filtrează.

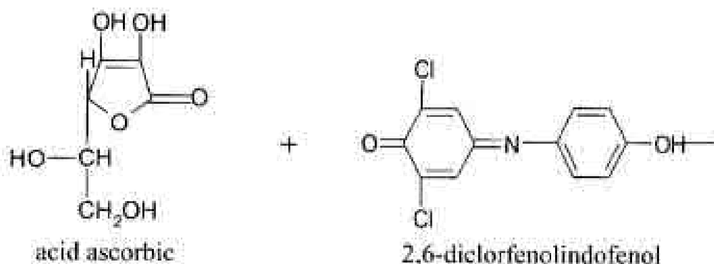
Soluția etalon: 0,001 g heleniena în 2 ml eter de petrol.
Faza staționară: silicagel G.
Faza mobilă: benzen-eter de petrol (1:1).
Revelare: invizibil (la lumina zilei).
Rezultate: helenienă – culoare galbenă Rf - 0,50. Luteina, de culoare portocalie, rămâne la linia de start.

După pulverizare cu H_2SO_4 concentrat, heleniena se colorează în albastru.

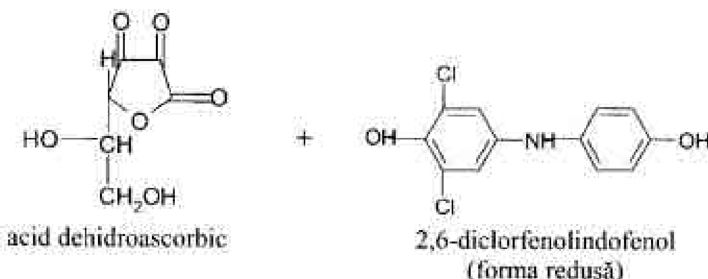
Dozare

Având în vedere structura diferită a vitaminelor, metodele de determinare cantitativă sunt diverse. Pentru determinarea acidului ascorbic se folosesc metode titrimetrice, a carotenilor – metoda colorimetrică, a vitaminei P (rutozidei) – metoda cromato-spectrofotometrică (va fi examinată la capitolul «Flavonoide»).

Dozarea acidului ascorbic în fructe de măceș *(Rosae fructus)*. Metoda de determinare cantitativă a acidului ascorbic este bazată pe proprietatea lui de a reduce 2,6-diclorfenolindofenolul:

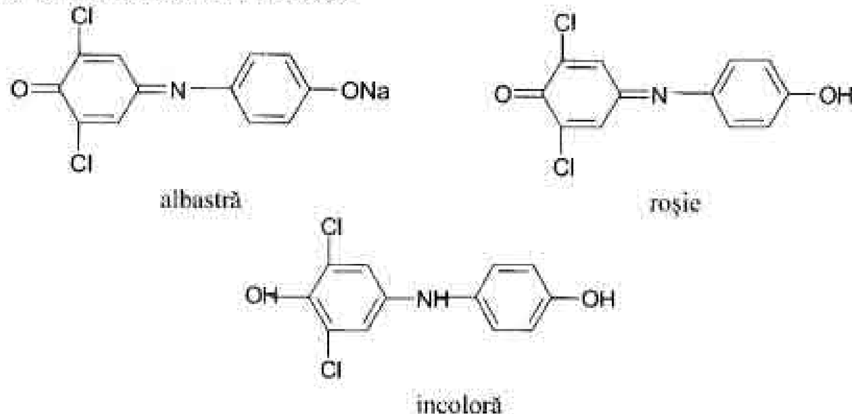


acid ascorbic 2,6-diclorfenolindofenol



acid dehidroascorbic 2,6-diclorfenolindofenol (forma redusă)

2,6-diclorfenolindofenolul în mediu alcalin are culoare albastră, în mediu acid – roșie, iar la reducere se decolorează:



20 g fructe de măceş intacte sau 10 g curăţate se pisează în mojar cu praf de sticlă (5 g), adăugând treptat 300 ml de apă distilată. Se macerează 10 minute, apoi se amestecă, se centrifughează şi se filtrează. Într-un balon conic de 50-100 ml se adaugă 1 ml soluţie de acid clorhidric 2 %, apoi 1 ml din extractul obţinut şi 13 ml de apă şi se titrează din microbiuretă cu soluţie de 2,6-diclorfenolindofenolat de sodiu 0,001 N până la apariţia culorii roz, care persistă timp de 0,5-1 minute. Titrarea se efectuează cel mult 2 minute. În cazul culorii intensive a centrifugatului sau a filtratului, ori a conţinutului sporit de acid ascorbic (2,6-diclorfenolindofenolat de sodiu se cheltuie peste 2 ml), determinat prin titrarea de probă, ele se diluează înainte de titrare de 2 şi mai multe ori.

1 ml soluţie de 2,6 diclorfenolindofenolat de sodiu 0,04 % (sau 0,001 N) corespunde la 0,000088 g de acid ascorbic.

Conţinutul procentual al acidului ascorbic (x) în raport cu produsul vegetal uscat se calculează după formula:

$$X = \frac{V \times F \times 0,000088 \times V_1 \times 100 \times 100}{m \times V_2 \times (100 - w)},$$

în care: V – volumul soluţiei 2,6-diclorfenolinidofenolat de sodiu 0,001 N, care s-a consumat la titrare, ml; F – coeficientul de rectificare a titrului soluţiei de 2,6-diclorfenolindofenolat de sodiu 0,001 N; V_1 – volumul extractului corespunzător probei de produs vegetal, ml; m – masa probei de produs vegetal, g; V_2 – volumul extractului luat pentru titrare, ml; w – pierderea din masa produsului vegetal la uscare, %.

Pregătirea soluţiei de 2,6-diclorfenondofenolat 0,001 N: 0,22 g 2,6-diclorfenolindofenolat se dizolvă în 500 ml de apă-proaspăt fiartă şi răcită la agitare energică (pentru dizolvare proba se lasă până a doua zi). Soluţia se filtrează într-un balon cotat pe 1 l şi se adaugă apă până la cotă. Soluţia se păstrează nu mai mult de 7 zile într-un loc răcoros şi întunecat.

Stabilirea titrului. Câteva cristale (3-5) de acid ascorbic se dizolvă în 50 ml soluţie de H_2SO_4 2 %, 5 ml din soluţia obţinută se titrează din microbiuretă cu soluţie de lucru de 2,6-diclorfenolindofenolat până la apariţia culorii roz stabile timp de 1-2 minute. Alţi 5 ml de aceeaşi soluţie de acid ascorbic se titrează precis cu soluţie de 0,001 N de iodură de potasiu în prezenţa câtorva cristale (2 mg) de iodat de potasiu şi 2–3 picături soluţie de amidon până la apariţia culorii albastre.

Coeficientul de corecţie *K*, se calculează după formula:

$$K = V/V_1,$$

unde: V – volumul precis al soluţiei de iodat de potasiu 0,001 N cheltuită la titrare, ml; V_1 – volumul soluţiei de 2,6-diclorfenolindofenol care s-a cheltuit la titrare, ml.

Conţinutul de acid ascorbic în produsul vegetal integral trebuie să fie de cel puţin 1% (FS).

Dozarea carotenului în fructele de scoruş *(Sorbi fructus)*. Metoda este bazată pe extracţia carotenului cu solvenţi organici (acetonă, benzen), apoi purificarea de substanţele asociate prin metoda de absorbţie cromatografică. Cantitatea de caroten în soluţia pură se determină colorimetric după intensitatea culorii galbene a soluţiei – prin compararea cu soluţia de azobenzen sau cu soluţia de bicromat de potasiu, standardizată după carotenul pur.

5–20 g de produs vegetal mărunţit se triturează în mojar cu nisip de cuarţ sau cu praf de sticlă. Deoarece carotenul este instabil în mediu acid, pentru neutralizarea acizilor la triturare se adaugă o cantitate mică de carbonat de sodiu. După triturare în mojar se adaugă treptat 10 ml de acetonă şi totul se triturează din nou. După aceasta, conţinutul mojarului se filtrează în vid, mojarul se clăteşte cu acetonă şi se spală pe filtru cu porţiuni mici de acetonă, până la dispariţia culorii filtratului curgător. Extractul acetonic se trece în pâlnia de separare. Pentru a trece pigmentul în benzen, la extracţie, în pâlnia de separare, se adaugă 10–20 ml de benzen şi amestecul se agită. Acetona din amestec se înlătură prin spălare, adăugându-se apă în pâlnia de separare (în porţii mici) şi agitând-o. Apele de spălare se scurg; ele nu trebuie să conţină pigmenţi solubili în benzen.

Soluţia benzenică, eliberată complet de acetonă, se usucă la filtrarea prin sulfat de sodiu anhidru. Prin absorbţia cromatografică, din soluţia benzenică se separă carotenul de clorofilă, xantofilă, licopină şi de alţi pigmenţi.

La fundul coloanei cromatografice (diametrul 1-1,5 cm, lungimea 15-20 cm) se aşează un tampon de vată cu grosimea de 1 cm, pentru a împiedica trecerea adsorbentului în recipient. Apoi în coloană se adaugă în porţii mici oxid de aluminiu, presând uşor fiecare porţie cu bagheta de sticlă. Lungimea coloanei adsorbentului trebuie să fie de 5-7 cm. Soluţia benzenică de pigmenţi se trece prin coloana cromatografică (pe suprafaţa adsorbentului trebuie să fie permanent un strat de benzen, deoarece carotenul se oxidează sub acţiunea aerului). Apoi în coloană se adaugă benzen pur, până când tot carotenul, izolându-se de alţi pigmenţi şi formând o fâşie galbenă, va trece în recipient. Carotenul, în comparaţie cu alţi pigmenţi, este absorbit mai slab de către oxidul de aluminiu. Sfârşitul cromatografierii se determină după dispariţia culorii galbene a lichidului ce se scurge din coloană. Soluţia de caroten în benzen se trece în balonul cotat de 100 ml şi se adaugă benzen până la cotă. Deoarece carotenul pur este o substanţă instabilă, la colorimetrie, în calitate de soluţie-standard, se foloseşte soluţia de azobenzol sau de bicromat de potasiu.

La colorimetrie, într-o cuvă se toarnă soluţie-standard, iar în alta – soluţie de caroten. Dacă soluţia de caroten este foarte concentrată, înainte de colorimetrie se recomandă de a o dilua cu benzen.

Conţinutul procentual al totalului de carotenoide se determină după formula:

$$X = \frac{K \times 100 \times V \times h_1 \times 100}{M \times h_2 (100 - w)},$$

în care: K – cantitatea de caroten în 1 ml soluţie-standard (egală cu 0,00208 mg dacă soluţia-standard este bicromatul de potasiu, şi 0,00235 mg în cazul când în calitate de soluţie-standard se foloseşte azobenzolul; V – volumul soluţiei de caroten în benzen, ml; h_1 – densitatea optică a soluţiei-standard; h_2 – densitatea optică a soluţiei de caroten investigată; m – masa probei de produs vegetal absolut uscat, g; w – pierderea din masa produsului vegetal la uscare, %.

Pregătirea soluţiilor-standard: 0,145 g de azobenzol, în prealabil recristalizat din alcool etilic şi uscat, se dizolvă în 100 ml alcool etilic 95%. Pentru lucru, soluţia de bază, azobenzolul, se diluează de 10 ori: se iau 10 ml de soluţie de bază şi într-un balon cotat de 100 ml se adaugă alcool etilic 95 % până la cotă.

Pregătirea soluţiei-standard de bicromat de potasiu: 0,360 g de bicromat de potasiu recristalizat se dizolvă într-un litru de apă distilată.

3.4. Produse vegetale cu conținut de uleiuri volatile

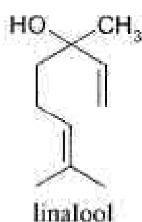
Definiție. Uleiurile volatile *(Aetherolea)* reprezintă un amestec de substanțe aromatice volatile sintetizate de plante. Fac parte din diferite clase de compuși organici, cu preponderență din cea a terpenoidelor (compuși oxigenați ai terpenelor), mai rar a compușilor aromatici și alifatici. Se întâlnesc și hidrocarburi, alcooli, cetone, aldehide, fenoli, lactone, acizi, eteri simpli, esteri etc. Denumirea de uleiuri volatile a fost acceptată datorită aromei caracteristice și consistenței uleioase. Spre deosebire de uleiurile grase se evaporă total și nu lasă pete grase pe hârtie.

Clasificare:

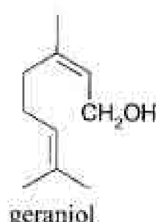
– în funcție de numărul de grupe izoprenice: 1) semiterpenoide, C_5H_8; 2) monoterpenoide, $C_{10}H_{6}$; 3) sesceviterpenoide, $C_{15}H_{24}$.

– după structura compușilor majoritari:

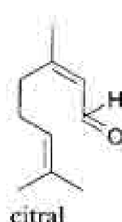
- uleiuri volatile cu monoterpenoide alifatice (aciclice) (linalool, geraniol, citral);



linalool

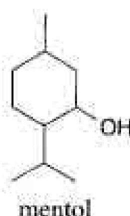


geraniol

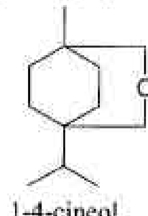


citral

- uleiuri volatile cu monoterpenoide monociclice (mentol, 1,4-cineol);

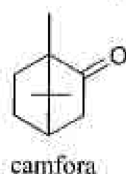


mentol

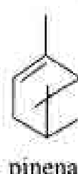


1-4-cineol

- uleiuri volatile cu monoterpenoide biciclice (camfora, pinena);



camfora

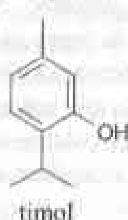

pinena

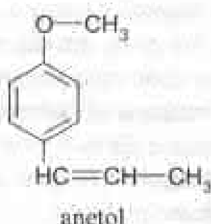
- uleiuri volatile cu sesceviterpenoide (azulena);

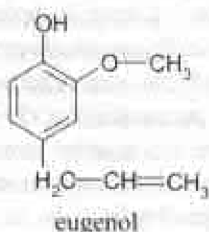


scheletul azulenei

- uleiuri volatile cu derivați fenilpropanici (compuși aromatici) (timol, anetol, eugenol).







3.4.1. Caractere macro- și microscopice

- **Uleiuri volatile cu monoterpenoide alifatice (aciclice)**

CORIANDRI FRUCTUS – fructe de coriandru
Planta producătoare – ***Coriandrum sativum*** – coriandru
Fam. **Apiaceae**

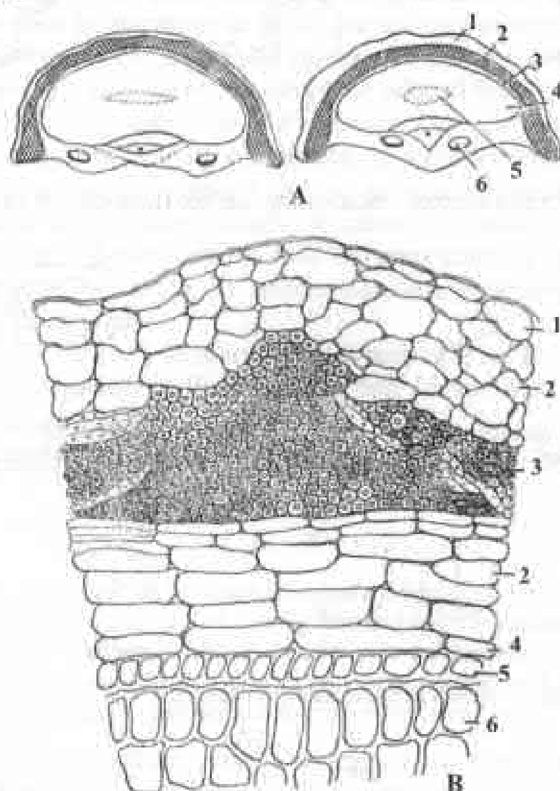


Fig. 18. **Fruct de coriandru:** ***A*** **– schema secțiunii transversale prin mericarp:** *1* – epidermă (exocarp); *2* – stratul mecanic al mezocarpului; *3* – endocarp; *4* – endospermul seminței; *5* – cotiledonul embrionului; *6* – canale secretoare. *B* – fragment al secțiunii transversale prin mericarp: *1* – epidermă (exocarp); *2* – parenchim fundamental; *3* – sclerenchim; *4* – endocarp; *5-6* – endosperm.

Caractere macroscopice: fructul este globulos, format din două mericarpe concrescute. La vârf are un caliciu pentalobat şi stilopłodul în formă de disc cu resturile stilurilor. Pe suprafaţa fructului se observă 10 coaste primare, longitudinale, ondulate şi 12 coaste secundare, drepte. Culoarea galbenă sau brună-deschisă, miros plăcut, aromat, gust picant. Dimensiuni: 2-5 mm în diametru.

Caractere microscopice: fructul de coriandru se fixează în parafină şi se fac secţiuni transversale *(fig. 18)*. La o mărire mică, în pericarp se observă o zonă mecanică gri, întretăiată de o făşie de parenchim în locurile de unire a mericarpelor. Endocarpul este concrescut cu endospermul. În partea comisurală a fiecărui mericarp se găsesc câte două canale secretoare. La mărire mare, sub epidermă (exocarp) se observă câteva rânduri de celule parenchimatice, tangenţial alungite, turtite. Apoi urmează o zonă mecanică masivă, formată din sclereide fibroase, ondulate, stratificate, cu membrane îngroşate şi lignificate; straturile lor sunt dispuse haotic, de aceea în secţiune se observă sclereide în direcţie transversală şi longitudinală. Endospermul din celule mari cu pereţii îngroşaţi, în care se găsesc picături de ulei gras, granule de aleuronă, cristale mici de oxalat de calciu.

LAVANDULAE FLORES – flori de levănţică

Planta producătoare – ***Lavandula angustifolia*** Mill. (syn. ***L. officinalis*** Chaix et Vill., ***L. vera*** DC) – levănţică

Fam. **Lamiaceae**

Caractere macroscopice: produsul este format din flori albastre-violacee, de formă conică, tubuloasă, ovoidă, cu 5-7 mm lungime şi 2-3 mm lăţime, corola nedeschisă. Caliciul tubulos se termină cu 4 dinţi scurţi şi unul mai mare. Corola şi caliciul sunt acoperite cu peri tectori şi glandulari. Androceul – din 4 stamine, ovarul superior, bilocular.

Miros caracteristic, aromat, gustul amar şi aromat.

MELISSAE FOLIA – frunze de roiniţă

Planta producătoare – ***Melissa officinalis*** L. – roiniţă (lămâiţă)

Fam. **Lamiaceae**

Caractere macroscopice: frunze oval-triunghiulare sau oval-cordiforme, peţiolul lung, vârful obtuz, marginea crenat-serată. Culoarea frunzelor este verde-închis pe faţa superioară şi verde-deschis pe cea inferioară. Dimensiunile: lungimea 3-6 cm, lăţimea 4-5 cm.

Frunzele au gust aromat, uşor amar, mirosul aromat, asemănător cu cel de lămâie.

Caractere microscopice: pe secţiunea transversală, realizată în dreptul nervurii mediane, se observă un fascicul conducător bicolateral. Pe margini şi de-a lungul nervurilor numeroşi peri tectori unicelulari, scurţi, triunghiulari, precum şi peri tectori pluricelulari şi peri glandulari.

- **Uleiuri volatile cu monoterpenoide monociclice**

CARVI FRUCTUS – fructe de chimen

Planta producătoare: ***Carum carvi*** L. – chimen

Fam. **Apiaceae**

Caractere macroscopice: fructul este o diachenă din două mericarpe libere, alungite, elipsoidale, uşor arcuite, turtite lateral, spre vârf îngustate. Partea exterioară a

mericarpului bombată, cu 5 coaste longitudinale evidente; partea interioară – plată, la vârf se observă stiloplodul în formă de disc, purtând resturile stilurilor. Dimensiunile: 3-7 mm lungime, 1,5–2 mm în diametru. Culoarea cenușie-brună (coastele au culoare mai deschisă).

Miros puternic aromat, gust amărui, picant, puțin înțepător.

CITRI PERICARPIUM – pericarpul fructelor de lămâi

Planta producătoare: ***Citrus limonum*** (L.) Burman – lămâi

Fam. **Rutaceae**

Caractere macroscopice: se prezintă sub formă de benzi aspre, dure, cu 2 cm lățime și 2-3 mm grosime, brun-gălbuie la exterior *(flavedo)* și albă pe interior *(albedo)*.

Mirosul puternic aromat, iar gustul slab amar.

EUCALYPTI FOLIA – frunze de eucalipt

Plante producătoare: ***Eucalyptus globulus*** Labill. – eucalipt-globular; ***E. cinerea*** Miiell. – eucalipt-cenușiu; ***E. viminalis*** Labill. – eucalipt-mlădios

Fam. **Myrtaceae**

Caractere macroscopice: frunzele de *E. globulus* cu lungimea de 5-15 cm și lățimea de 4-8 cm, lanceolate, elipsoidale, la bază cordiforme, sesile sau cu pețiol scurt și cu baza rotunjită. Frunzele ramurilor bătrâne alungit-lanceolate, falciforme, pețiolate, lungimea 15-30 cm și lățimea până la 3 cm.

Frunzele de *E. cinerea* de pe ramurile tinere sunt lat-ovate, sesile, ascuțite la vârf, lungimea și lățimea variind în limitele 2,5-7,5 cm. Cele de pe ramurile bătrâne sunt lanceolate, la vârf bonte, pețiolate, cu lungimea de la 5 cm până la 10 cm, lățimea 1–3 cm.

Frunzele de *E. viminalis* de pe ramurile bătrâne sunt pețiolate, de la îngust-lanceolate până la falciforme, cu vârful ascuțit, atingând 4-27 cm lungime și 0,5-5 cm lățime. Frunzele de pe ramurile tinere sunt ovate, fără pețiol sau cu pețiol scurt, la bază cu incinzură cordată, la vârf ascuțite, de 3,5-11 cm lungime și 4-7 cm lățime. Toate frunzele sunt glabre cu marginea întreagă; cele bătrâne – coriacee, consistente, rugoase, cele tinere – slab coriacee, moi. La examinarea frunzei la lumină se observă numeroase puncte de culoare deschisă (pungi eterouleioase). Culoarea produsului vegetal verde-deschis sau verde-cenușie, frunzele tinere cu nuanță azurie (sau violetă – eucalipt-mlădios).

Miros puternic, aromat, gust picant, amărui, puțin astringent.

Caractere microscopice: secțiune transversală prin frunză în soluție de cloralhidrat *(fig. 19)*. Pentru colorarea uleiului volatil și a cuticulei, preparatul se pregătește în soluție de sudan III (roșu-portocaliu). Frunza este izolaterală, țesutul palisadic dispus pe ambele părți, din 3-4 rânduri, la frunzele tinere din 2-3 rânduri de celule alungite, compact lipite. Parenchimul spongios e slab vizibil. În celulele mezofilului se întâlnesc cristale de oxalat de calciu sub formă de druze; în frunzele tinere sunt cristale sferice, druze – mai puține. Celulele epidermei de pe ambele părți ale frunzei sunt acoperite cu un strat gros de cuticulă. Pungile eterouleioase sunt de origine schizogenă, mari, cu conținut de ulei volatil. Nervura conține mult țesut mecanic – colenchim, depus sub epidermă în câteva rânduri și fibre sclerenchimatice, ce înconjoară fasciculul conducător. Nervurile au teacă cristaligenă cu cristale prismatice. Pe frunză se observă uneori lenticele sub formă de pete brune, determinate de țesut suberos.

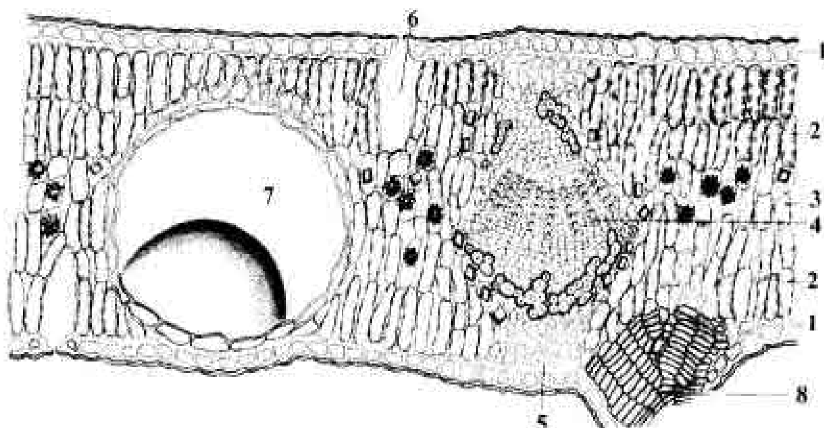


Fig. 19. **Secţiune transversală prin frunza de eucalipt (x280):** *1* – epidermă; *2* – ţesut palisadic; *3* – ţesut lacunar; *4* – fascicul conducător; *5* – colenchim; *6* – stomată; *7* – pungă eterouleioasă; *8* – suber

MENTHAE PIPERITAE FOLIA – frunze de izmă-bună

Planta producătoare: ***Mentha piperita*** L. – izmă-bună (mentă)

Fam. **Lamiaceae**

Caractere macroscopice: frunza este peţiolată, alungit-ovată, lat-lanceolată, acuminată. Marginea serată. Pe suprafaţa frunzei, la stereomicroscop sau cu lupa pot fi observate glande eterouleioase strălucitoare, de culoare galben-închis, iar pe nervuri – perişori rari. Nervurile penate, proeminente pe epiderma inferioară; nervurile secundare se unesc, anastamozând între ele. Culoarea verde-închis. Dimensiuni: 5–8 cm lungime şi 2–3 cm lăţime, lungimea peţiolului până la 1 cm.

Mirosul aromat, caracteristic, gustul iute, înţepător şi răcoritor.

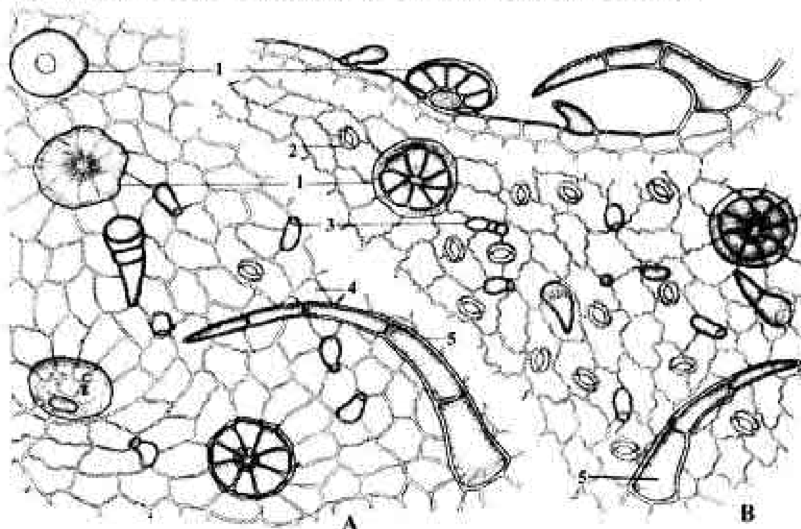


Fig. 20. **Preparat superficial din frunza de izmă-bună (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *1* – glande; *2* – stomate; *3* – perişor glandular; *4* – cuticulă striată; *5* – păr tector pluricelular

Caractere microscopice: preparat superificial din frunză *(fig. 20)*. Celulele epidermei superioare au pereţii puţin sinuoşi, pe alocuri moniliform îngroşaţi, iar ale celei inferioare puternic sinuoşi. Stomatele, în partea inferioară, sunt ovale, cu două celule anexe, ai căror pereţi sunt orientaţi perpendicular axei ostiolei (caracteristic familiei Lamiaceae). Peri tectori şi glandulari, cei glandulari – dispuşi pe ambele părţi ale frunzei, cu piciorus scurt, monocelular, cu glandă ovală monocelulară. Perii tectori pluricelulari (2-5-celule), dispuşi pe nervurile mari, pe marginea frunzei, au suprafaţa verucoasă, mai rar se întâlnesc peri monocelulari în formă de excrescenţe mamelare. Pe ambele părţi ale frunzei sunt dispuse numeroase glande eterouleioase, rotunde, din 8 (mai rar 10–12) celule secretoare, dispuse radial; în centru se observă piciorusul rotund al glandei eterouleioase (caracteristică pentru reprezentanţii familiei Lamiaceae). Sub cuticula acestei glande se observă picături de ulei volatil.

PYRETHRI FLORES – flori de piretru

Planta producătoare: ***Pyrethrum cinerariaefolium*** Trev. – piretru (floarea-craiului)

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: calatidii cu diametrul de la 7 mm până la 15 mm, cu pedunculul de circa 20 cm. Au involucru format din mai multe rânduri de bractei lanceolate, cu vârf acut, dispuse imbricat, pe margine cu un chenar lat, pelicular, de culoare deschisă. Bracteele externe pubescente, cele interne – glabre. Florile marginale ale calatidiului (în număr de 20) sunt ligulate, cu trei dinţi, pistilate, dispuse într-un rând, albe sau albe-crem. Florile centrale sunt numeroase, tubuloase, bisexuate, corola cu îndoitură, cu 5 dinţi. Receptacul dens, puţin convex, cav. Tija floriferă verde-cenuşie, cilindrică, costată.

Miros caracteristic, persistent, gustul fad, apoi înţepător.

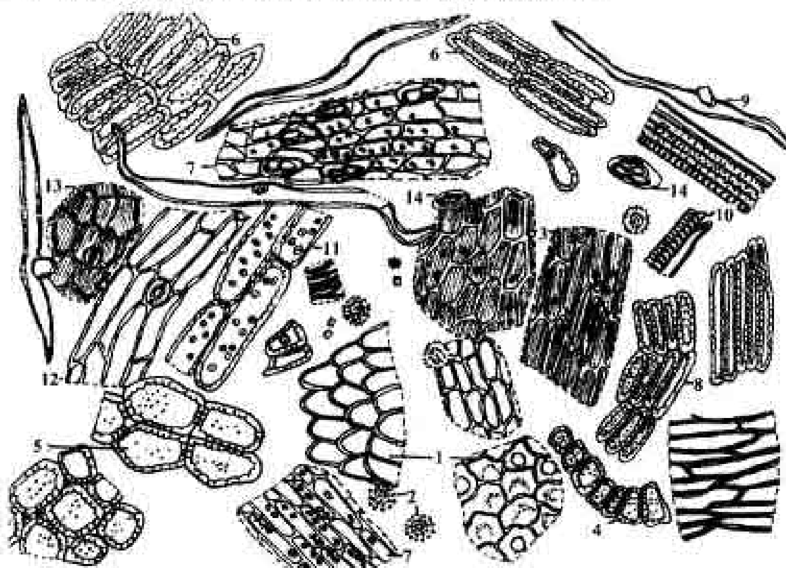


***Fig. 21.* Elementele pulberii inflorescenţei de piretru (x280):** *1* – epiderma florii ligulate; *2* – polen; *3* – ţesutul florii tubuloase; 4 – celule sclerificate ale bazei ovarului; *5* – ţesut mecanic al pedunculului; *6* şi *8* – ţesut mecanic al bracteei involucrului; *7* – celulele ţesutului florii cu cristale şi glande; *9* – peri tectori; *10* – fragmente de fascicule ale bracteei; *11* – elemente mecanice ale pedunculului; *12* – epiderma pedunculului; *13* – epiderma frunzei; *14* – glande

Caractere microscopice: pulbere de inflorescențe în soluție de cloralhidrat (*fig. 21*). Celulele epidermei superioare a florilor ligulate au pereții drepți, subțiri, cu excrescențe mamelare, iar ale celei inferioare sinuoși, cu cuticulă cutată. În țesuturile tubului florilor tubuloase se conțin druze mici și cristale prismatice de oxalat de calciu. Bracteele involucrului au numeroase celule sclerificate de diferite forme, dispuse în straturi adesea puternic alungite, cu membrană galbenă-verzuie, străbătută de pori.

Sclereidele de la baza bracteelor involucrului și ovarului conțin, de obicei, cristale adunate în grupuri mici sau solitare. Se întâlnesc și celule mari, rotunde sau ovale, cu membrana slab îngroșată, dar nelignificată, cu pori rari fisurați (din partea internă a pedunculului floral.

Se observă peri cu piciorus scurt, din 1-2 celule, și cu o celulă transversală lungă, uneori sinuoasă, ceea ce-i face asemănători cu perii în formă de litera „T" (de pe bracteele involucrului). Se întâlnesc fragmente de epidermă ale bracteelor involucrului, florilor, ovarului și floriferilor ce conțin glande cu ulei volatil de tipul asteraceelor. În pulberea fină glandele sunt mai des deformate și parțial distruse. Produsul vegetal conține mult polen sferic cu exină ghimpoasă.

ROSMARINI FOLIA – frunze de rozmarin

Planta producătoare: ***Rosmarinus officinalis*** L. – rozmarin

Fam. **Lamiaceae**

Caractere macroscopice: frunze liniare, sesile, lungimea 2-3 cm și lățimea 1-2 mm. Nervura mediană proeminentă pe fața inferioară și liniar-invaginată pe fața superioară, semănând cu o frunză de conifere. Forma caracteristică frunzelor este determinată de răsucirea marginii către fața inferioară, până la o formă tubulară.

Miros puternic aromat, gust ușor amărui.

Caractere microscopice: caracteristici sunt perii tectori pluricelulari articulați și glandele octocelulare, tipice pentru familia Lamiaceae.

SALVIAE FOLIA – frunze de jaleș

Planta producătoare: ***Salvia officinalis*** L. – jaleș (salvie)

Fam. **Lamiaceae**

Caractere macroscopice: frunze lanceolate sau alungit-lanceolate, cu baza rotunjită, pețiolate. Marginea fin crenată, pe partea inferioară a limbului cu unul sau doi lobi opuși. Ambele fețe ale frunzei sunt pubescente, mai ales cea inferioară. Nervațiunea penat-reticulată, imprimată pe fața superioară și proeminentă pe cea inferioară. Lungime 6-10 cm și lățimea 1,5-2,5 cm. Culoarea produsului vegetal este verde-cenușie sau argintie.

Miros puternic aromat, specific, mai ales la triturare; gust amărui, puțin astringent.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză (*fig. 22*). Celulele epidermei superioare ale frunzei sunt poligonale, ușor sinuoase, pe alocuri cu pereții neuniform îngroșați; lângă nervuri și pe marginea frunzei se observă cuticula striată. Celulele epidermei inferioare puțin sinuoase. Stomate numeroase. Glandele eterouleioase octocelulare, peri tectori și glandulari. Cei tectori sunt numeroși, pluricelulari; 2-4 celule de la baza perișorului sunt scurte, cu pereți îngroșați, celula terminală lungă, încovoiată și ondulată, cu pereți subțiri. Perii glandulari se observă pe nervuri și pe marginea frunzei, unii pe piciorus monocelular scurt cu glandă monocelulară, mai rar

bicelulară; alţii pe piciorus mai lung, 1-3-celulari, cu glanda mică sferiformă sau puţin alungită, monocelulară.

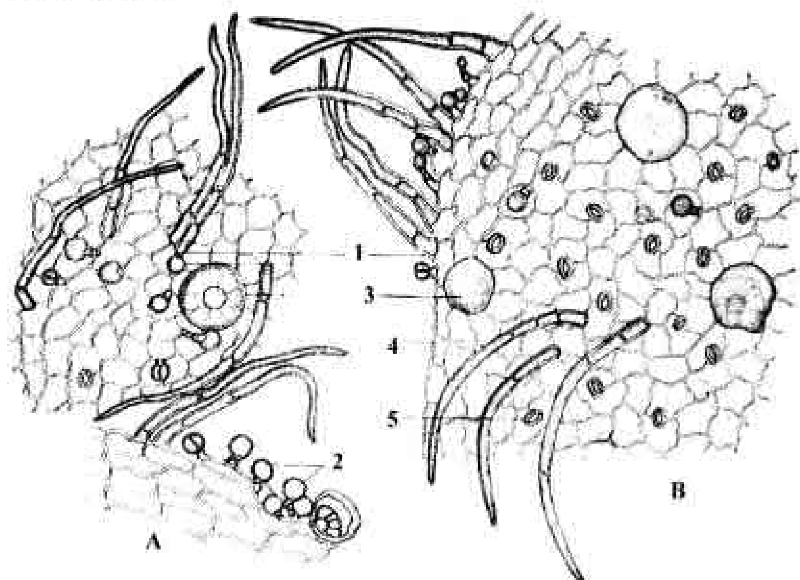


Fig. 22. **Preparat superficial din frunza de salvie (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară. *1* – peri tectori; *2* – peri glandulari, *3* – glande; *4* – cuticulă striată; *5* – stomată

- **Uleiuri volatile cu monoterpenoide biciclice**

HYSSOPI HERBA – părţi aeriene de isop

Planta producătoare: ***Hyssopus officinalis*** L.– isop

Fam. **Lamiaceae**

Caractere macroscopice: tulpinile sunt tetramuchiate, uşor pubescente, cu frunze opuse, alungit lanceolate. Inflorescenţa spiciformă din flori cu corola tubuloasă, colorată în albastru-violaceu.

Miros aromat, gustul uşor arzător.

JUNIPERI FRUCTUS – fructe de ienupăr

Planta producătoare: ***Juniperus communis*** L. – ienupăr

Fam. **Cupressaceae**

Caractere macroscopice: fructul este o pseudobacă globuloasă cu 6–9 mm în diametru. În vârf are o adâncitură în formă de stea cu trei braţe, locul concreşterii a trei megasporofile ale conului, care după fecundare devine fruct cărnos. La bază pedunculul este scurt, cu 6 solzi mici ai conului. Tegumentul fructului mat sau strălucitor, fragil, iar miezul spongios, verde-brun, cu 3 (rareori 2–4) seminţe tari, cartilaginoase, alungite, cu 3–4 muchii rotunjite la vârf, întinse, spre bază lărgite. Culoarea fructului brun-violacee.

Miros aromat (răşinos), gust înţepător, dulceag, picant.

Caractere microscopice: secţiunea transversală prin fruct prezintă la examinarea cu lupa *(fig. 23)* trei seminţe mari de formă neregulată, cu 3-4 muchii. Tegumentul seminal dur, cu numeroase sclereide cu cristale prismatice de oxalat de calciu. Partea

centrală a seminţei ulcioasă, culoarea albă. În regiunea mezocarpului, aproape de seminţe, se află pungi secretoare mari, deseori cu conţinut strălucitor cristalin. Unele dintre aceste pungi sunt mici şi dispuse spre periferie.

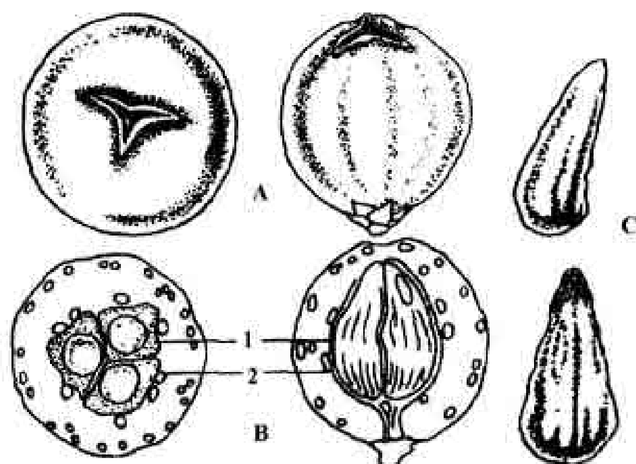


Fig. 23. **Fruct de ienupăr:** *A* – aspect exterior al fructului (văzut deasupra şi dintr-o parte); *B* – secţiune transversală şi longitudinală prin fruct; *C* – aspect extertor al seminţei (sub lupă); *1* – sămânţă; *2* – pungi secretoare

TANACETI FLORES – flori de vetrice
Planta producătoare: ***Tanacetum vugare*** L. – vetrice
Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: produsul vegetal este format din inflorescenţe, calatidii tubuloase unite în corimb, părţi ale acestora sau calatidii solitare. Calatidiul are formă semisferică, cu diametrul de la 7-10 mm până la 12 mm. Într-un calatidiu sunt adunate circa 200-250 de flori mici tubuloase, aşezate pe un receptacul gol, puţin convex. Bracteele involucrului, aşezate imbricat, în 4-5 rânduri, sunt lanceolate, verzi-cenuşii, cu o fâşie peliculară de culoare mai deschisă sau brună. Florile marginale cu pistil, au trei dinţi; cele mijlocii, cu 5 dinţi, sunt bisexuate. Staminele, în număr de 5, au filamentele concrescute la vârf.

Miros puternic, caracteristic, gust amar.

VALERIANAE RHIZOMATA CUM RADICIBUS – rizomi cu rădăcini de odolean
Planta producătoare: ***Valeriana officinalis*** L. – odolean (valeriană)
Fam. **Valerianaceae**

Caractere macroscopice: rizom vertical, conusoidal, în partea inferioară îngustat, în interior cav sau cu măduvă spongioasă şi despărţituri transversale. Lungimea rizomilor 2-4 cm, în diametru până la 3 cm. Rădăcini adventive numeroase, subţiri. Lungimea medie 6-15 cm, diametrul 2-4 cm. Culoarea produsului vegetal – galbenă sau cafenie-cenuşie, iar a rizomului mai întunecată decât a rădăcinilor.

Miros caracteristic, puternic, gust picant, amărui.

Impurificări posibile. 1) Iarba-fiarelor (*Vincetoxicum officinale* Moench, fam. Asclepiadaceae). Rizom lung, târâtor, cu numeroase rădăcini subţiri. 2) Creţuşcă (*Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. fam. Rosaceae). Sistem radicular dezvoltat, rizom târâtor, de culoare neagră-brună. 3) Râgnică (*Cardamine macrophylla* Willd., fam.

Brassicaceae). Rizom târâtor. 4) Cânepa-codrului (*Eupatorium cannabinuin* L., fam. Asteraceae). Sistemul radicular asemănător cu al odoleanului, dar fără miros.

Caractere microscopice: secțiune transversală prin rădăcină *(fig. 24)*. Rădăcina subțire, la vârf cu structură primară, în partea medie și bazală – secundară. Celulele rizodermei alungite, în formă de capilare și cu peri lungi radiculari. Sub risodermă se află hipoderma din celule dreptunghiulare bogate în ulei volatil. Parenchinul cortical din celule ovale, omogene, bogate în amidon. Granulele de amidon sunt mici (3-9 µm), ovale sau rotunde, simple și compuse (din 2-5). Parenchimul se termină cu endoderm, în interiorul căruia se găsește cilindrul central axial, cu fascicule libero-lemnoase colaterale, unite prin cambiu.

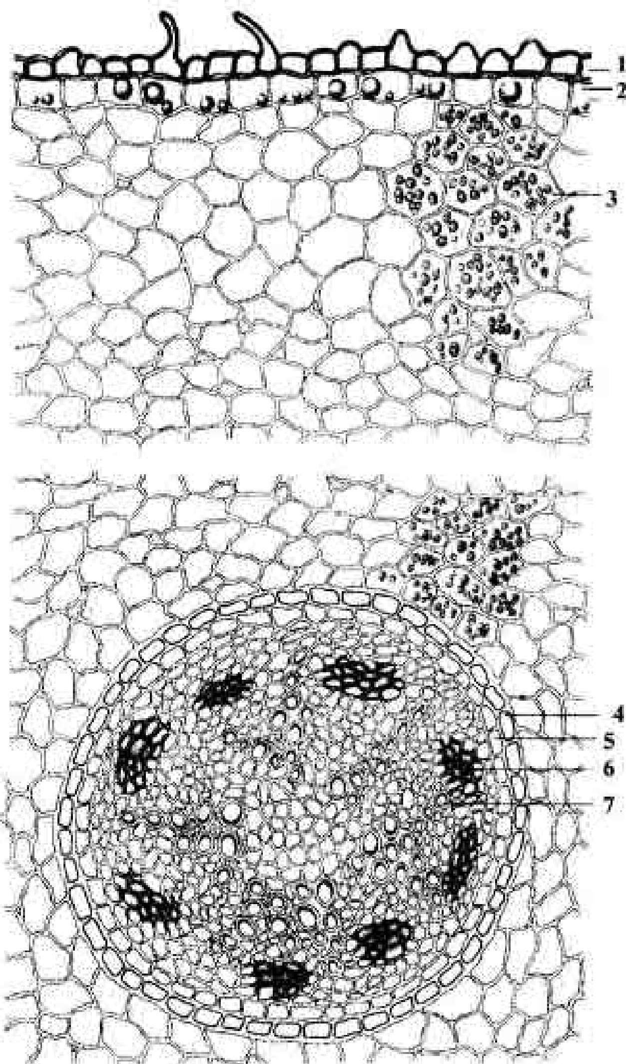


Fig. 24. **Secțiune transversală prin rădăcina de odolean (x280):** *1* – rizodermă; *2* – hipodermă cu ulei volatil; *3* – celule ale parenchimul scoarței cu amidon; *4* – endoderm; *5* – periciclu; *6* – liber; *7* – lemn

- **Uleiuri volatile cu sesviterpenoide**

ARNICAE FLORES – flori de arnică

Plantele producătoare: ***Arnica montana*** L., ***A. folioza*** Nutt., ***A. chamissonis*** Less. – arnică.

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din calatidii solitare cu diametrul până la 3 cm, lungimea pedunculului sub 3 cm. Involucrul semisferic, în 2 rânduri; bracteele alungit-lanceolate, galben-verzui, cu nervură centrală întunecată. Receptaculul plat sau uşor convex, lacunos, acoperit cu peri aspri şi scurţi. Florile marginale ligulate, subţiri, tridinţate, pistilate, galbene-portocalii. Florile centrale tubulare, bisexuate, pentadinţate, galbene sau portocaliu-galbene. Staminele concrescute în tub, pistilul cu stigmatul bilobat. Ovarul este inferior, înzestrat cu papus din peri mari, aspri.

Mirosul slab, caracteristic, gustul iute, amar.

CALAMI RHIZOMATA – rizomi de obligeană

Planta producătoare: ***Acorus calamus*** L. – obligeană

Fam. **Araceae**

Caractere macroscopice: produsul vegetal poate fi de două sorturi: *Calami rhizomata mundata* – rizom de obligeană decorticat; *Calami rhizomata naturalis* – rizom de obligeană nedecorticat. Sortul decorticat este neted şi prezintă mai puţin evident caracterele celui nedecorticat. Culoarea produsului vegetal galben-cenuşie. Fragmentele au 10-15 cm lungime şi 0,5-1,5 cm în diametru. Fragmentele rizomului nedecorticat sunt turtite, cu 15-30 cm lungime şi 1-2 cm în diametru. Pe partea superioară a rizomului o cicatrice lată, întunecată, în formă de semilună – urmele frunzelor, pe cea inferioară punctuaţii rotunde, de culoare mai închisă – urmele rădăcinilor. Culoarea rizomului cafenie-deschisă până la cafeniu-roşiatică. Fractura neregulată, slab-granuloasă, poroasă, de culoare alb-roz.

Mirosul caracteristic, gustul amar, puţin arzător.

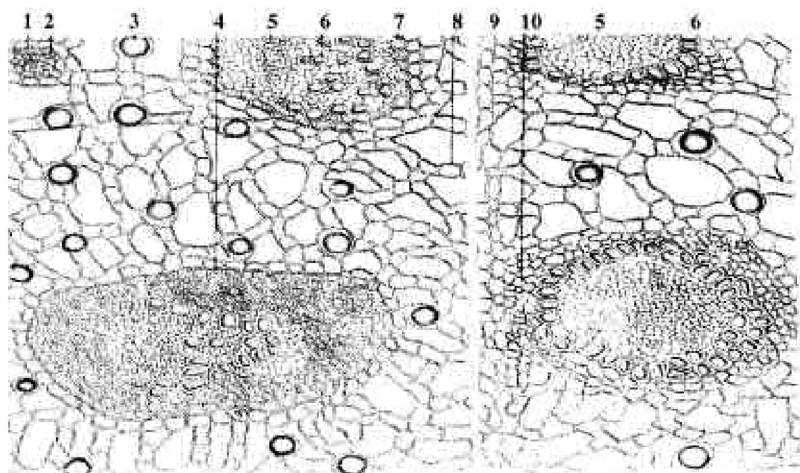


Fig. 25. **Secţiune transversală prin rizomul de obligeană (x280):** *1* – grup de fibre; *2* – cristale de oxalat de calciu; *3* – celule cu ulei volatil; *4* – fascicul conducător colateral; *5* – liber; *6* – lemn; *7* – fibre mecanice; *8* – amidon; *9* – endoderm; *10* – fascicule leptocentrice

Caractere microscopice: secţiune transversală prin rizom *(fig. 25)*. Cu lupa se observă scoarţa de culoare deschisă, endoderma delimitată de cilindrul central. În scoarţă şi în cilindru sunt prezente fascicule conducătoare punctiforme de culoare întunecată. Unele dintre ele sunt înconjurate de un strat de ţesut mecanic.

În parenchimul scoarţei se întâlnesc grupuri nu prea mari de fibre. În cilindrul central fasciculele conducătoare, concentrice, leptocentrice, sunt dispuse aproape de endoderm. Ţesutul principal al rizomului este spongios, cu spaţii aerifere (aerenchimul), din celule – ovale, rotunjite, care conţin granule de amidon foarte mici (2-4 μm), simple, ovale sau rotunjite. Celulele mai mari ale ţesutului fundamenntal conţin ulei volatil de culoare gălbuie, care se colorează cu sudan III în roşu-portocaliu. Unele celule, care conţin ulei volatil, au pereţii celulari slab lignificaţi.

CHAMOMILLAE FLORES – flori de muşeţel

Planta producătoare: ***Matricaria recutita*** L. (syn. ***M. chamomilla*** L.) – muşeţel

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din calatidii cu pedunculi de 3 cm, semisferice sau conice, cu 4-8 mm în diametru. Involucrul din 2-3 rânduri de bractei verzi, ovat-lanceolate, scuamoase şi scarioase pe margine. Florile marginale ligulate, late, tridinţate la vârf, cele centrale tubuloase, galbene, bisexuate, cu corolă pentadinţată. Ovarul inferior, gol. Florile sunt dispuse pe un receptacul conic, cav în interior – semn caracteristic (structura receptaculului se studiază pe secţiune longitudinală, efectuată cu bisturiul).

Miros caracteristic, gust picant, uşor amărui, puţin mucilaginos.

Caractere microscopice: florile tubuloase se introduc în soluţie de cloralhidrat pe lamă, se acoperă cu lamela şi se încălzesc până la clarificare *(fig. 26)*. Pe tubul corolei şi pe ovar se observă glande eterouleioase pluricelulare (structură caracteristică pentru familia Asteraceae); celulele secretorii sunt dispuse câte 2, rânduri, în 3-4 nivele (vedere dintr-o parte); la examinarea de deasupra a glandelor se observă formaţiuni ovale cu perete transversal.

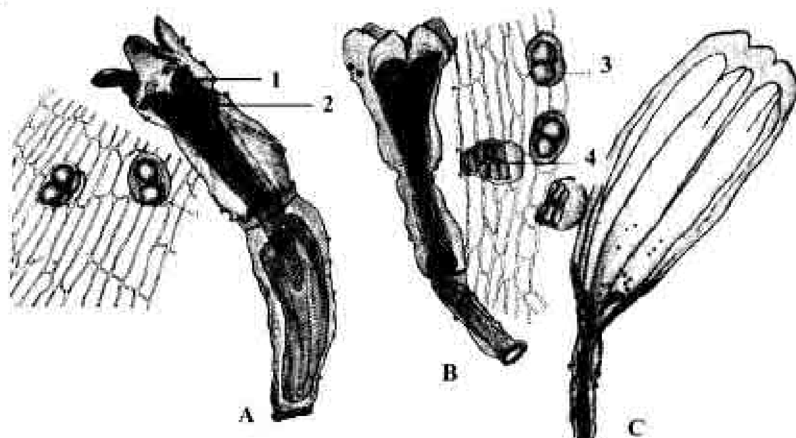


***Fig. 26.* Aspectul general al florilor unor specii din genul *Matricaria* (x32):**
A – floare tubuloasă de *M. matricarioides*; *B* – floare tubuloasă de *M. recutita*; *C* – floare ligulată *M. recutita*. *1* – glande eterouleioase; *2* – granule de polen; *3* – glande (privite deasupra); *4* – glandă (privire laterală) (x280)

Impurificări posibile: 1) *Matricaria inodora* L. – calatidii mari, receptacul semisferic, conic, bont, continuu; produsul vegetal fără miros. 2) *Anthemis cotula* L. – după dimensiuni, formă şi coloraţia calatidiilor nu diferă de muşeţel. Receptacul conic, dar nu e cav, acoperit cu pelicule înguste, aspre. 3) *Leucanthemum vulgare* Lam. – calatidii mari, receptacul plat, nu e cav; produs vegetal fără miros. 4) *Pyrethrum parthenium* L. – produs vegetal cu miros slab, calatidii de dimensiuni uniforme; receptaculul convex nu este cav. 5) *Anthemis arvensis* L. – calatidii rare, receptaculul conic nu este cav, cu pelicule ghimpoase, fără miros.

Pentru administrare externă sunt florile de *Matricaria matricarioides* Less. Porter (syn. *M. suaveolens* Buch). Calatidiile pe un peduncul nu mai mare de 1 cm. Florile sunt tubuloase, cu corola tetradinţată, verzui-galbene. Caliciul scurt, pelicular. Florile marginale lipsesc. Receptacul conic, cav.

INULAE RHIZOMATA ET RADICES – rizomi şi rădăcini de iarbă-mare
Planta producătoare: ***Inula helenium*** L. – iarbă-mare
Fam. **Asteraceae**

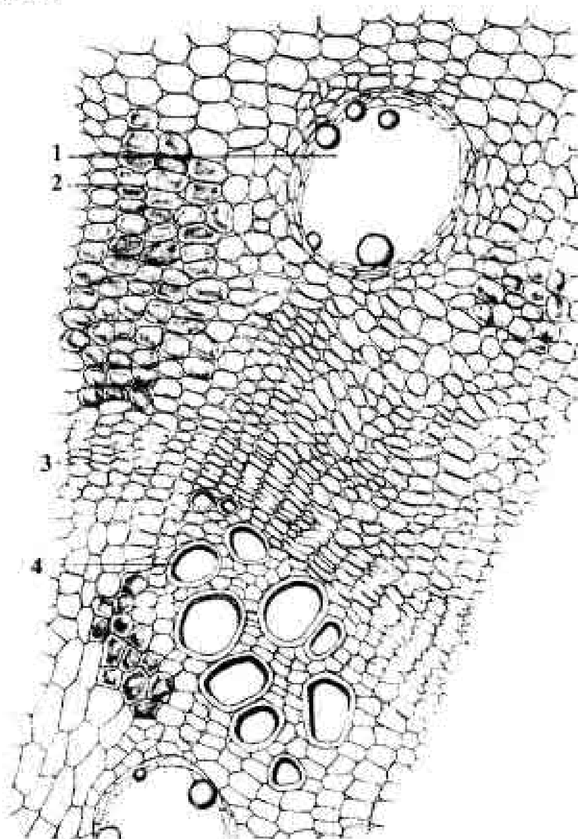


Fig. 27. **Secţiune transversală prin radăcina de iarbă-mare (x280):**
1 – pungi cu ulei volatil; *2* – celulele parenchimului cu inulină; *3* – cambiu; *4* – vase lemnoase

Caractere macroscopice: fragmente tari de rizomi şi rădăcini de diversă formă. La exterior se observă suber de culoare cafenie-cenuşie, longitudinal-încreţit. Fractura

e verucoasă; uşor granulată. Cu lupa sau la stereomicroscop se observă un segment îngust şi întunecat de cambiu, ce desparte scoarţa gri de lemnul alb, şi pungi eterouleioase rotunde, cu conţinut strălucitor. Dimensiunile produsului vegetal: lungimea fragmentelor de rizom şi rădăcini de la 2 cm până la 20 cm; diametrul de la 1 cm până la 40 cm.

Mirosul aromat, caracteristic, gustul picant, amărui.

Caractere microscopice: secţiune transversală prin rădăcină *(fig. 27)*. Suberul în mai multe rânduri. Parenchimul scoarţei e format din celule mari pline cu inulină, care refractă puternic lumina (a se examina fără încălzire). Sectoarele de liber din celule mici, dispuse în grupuri nu prea mari. Linia cambiului pronunţată. În lemn cele mai mari vase sunt dispuse în grupuri. În scoarţă şi lemn pungi caracteristice, mari, schizogenice, cu ulei volatil şi răşină, rotunde sau ovale, cu un strat de celule secretoare bine conturate. Conţinutul pungilor se colorează cu sudan III în culoare roşie-portocalie.

MILLEFOLII HERBA – părţi aeriene de coada-şoricelului

Planta producătoare: ***Achillea millefolium*** L. – coada-şoricelului

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din tulpini foliate cu lungimea de până la 15 cm, colectate în timpul înfloririi cu inflorescenţe la vârf. Tulpina este ramificată, longitudinal-brăzdată. Frunzele bipenat-sectate, lanceolate sau liniare, laciniile frunzei sectate în 3-5 segmente lanceolate sau liniare. Frunzele şi tulpinile pubescente, în special cele tinere. Calatidiile ovate, de 2-3 mm lăţime şi 3-4 mm lungime, grupate în inflorescenţe corimb. Florile marginale albe sau slab roze, ligulate, tridinţate la vârf, cu pistil, iar cele centrale albe sau gălbui, tubulare, pentadinţate, bisexuate. Stamine 5, pistilul cu stigmatul bilobat, ovarul inferior. Involucrul imbricat, din bractee oviforme, cu marginea peliculată.

Gustul amărui, mirosul aromat, caracteristic.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 28)*. Celulele epidermei din ambele părţi alungite, ondulate; epiderma inferioară cu celule mai mici şi ondulate. Stomate sunt pe ambele epiderme, pe cea inferioară – mai multe, dispuse longitudinal, înconjurate de 4-5 celule. Cuticula pe ambele epiderme este striată, alungită, în jurul stomatelor – radială. Pe ambele părţi ale frunzei se întâlnesc numeroşi peri şi glande, pe partea inferioară – mai numeroşi. Perii sunt tectori, pluricelulari, având o celulă terminală lungă, puţin ondulată, cu membrană albă, groasă şi cavitate îngustă, filiformă. Celulele bazei, în număr de 4-7, au membrane subţiri; cea inferioară e umflată, acoperită cu o cuticulă striată. Celula terminală a perilor se rupe uşor, pe frunze rămânând baza perilor. Glandele sunt dispuse în adânciturile frunzei, semn caracteristic familiei Asteraceae. Cuticula, ce acoperă glanda eterouleioasă, este foarte umflată, uneori eruptă, lăsând să se vadă picături de ulei volatil.

Nervurile frunzei şi ale segmentelor sunt însoţite de canale secretoare, cu un conţinut gălbui, granulos şi uleios, care se colorează cu sudan III în roşu-portocaliu.

Preparat din flori (calatidiile se fierb în prealabil în apă). Florile ligulate, tubuloase şi bracteele involucrului se fixează în cloralhidrat pe lamă, se acoperă cu o lamelă şi se încălzesc până la clarificare. La o mărire mică se vede clar structura generală a florilor şi bracteelor involucrului. Multe glande sunt pe florile tubuloase şi ligulate, pe bracteele involucrului – mai multe la bază. Epiderma părţii inferioare a florilor ligulate are o concrescenţă papiliformă, a celei exterioare constă din celule ondulate cu cuticulă

striată. Celulele epidermei florilor tubulare din ambele părți sunt ondulate cu membrane foarte subțiri. În țesutul tubului corolei florilor ligulate și tubuloase se află druze mici de oxalat de calciu. Țesutul bracteei involucrului din celule alungite, cu membrane groase, străpunse de pori. La vârful bracteei involucrului sunt perișori tectori. Pe părțile florii – numeroase granule de polen sferic cu exină spinoasă.

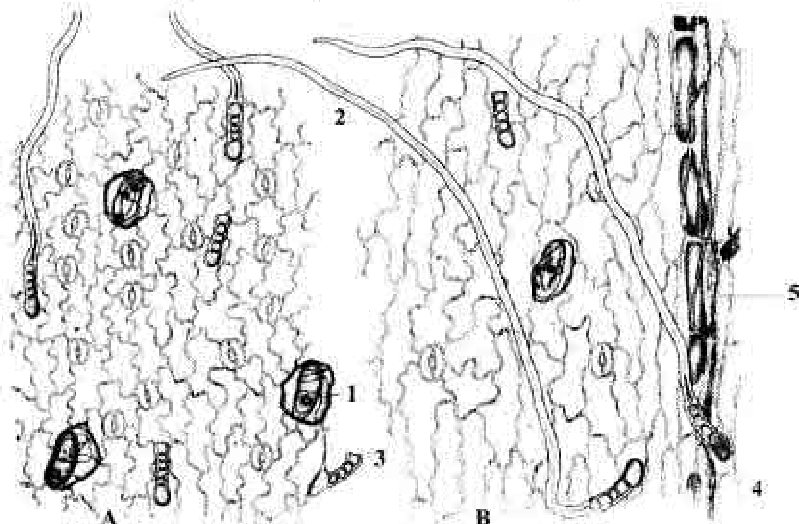


Fig. 28. **Preparat superficial din frunza de coada-șoricelului (x280):**
A – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară. *1* – glande eterouleioase; *2* – peri tectori; *3* – baza perișorului; *4* – vasele fasciculului conducător; *5* – canale secretoare

- **Uleiuri volatile cu derivați fenilpropanici (compuși aromatici)**

ANISI VULGARIS FRUCTUS – fructe de anason
Planta producătoare: ***Anisum vulgare*** Gaerth. – anason
Fam. **Apiaceae**

Caractere macroscopice: fructul – diachenă din două mericarpe unite între ele, ovate oviform sau în formă de pară, la bază dilatată, spre vârf îngustată, lateral puțin turtită, cu peduncul, lungimea 3-5 mm, diametrul 2-3 mm. În partea superioară a fructului se observă stiloplodul în formă de disc, purtând resturile stilurilor. Fructul are 10 coaste longitudinale, puțin proeminente; suprafața este mată, rugoasă din cauza prezenței perilor scurți. Culoare cenușie-verzuie.

Mirosul plăcut, aromat, caracteristic, la triturare puternic; gustul picant, dulceag, slab arzător.

Caractere microscopice: fructul de anason se fixează în parafină, apoi se fac secțiuni transversale (*fig. 29*). Secțiunea transversală are aspect aproape rotund, cu 10 coaste proeminente, în care sunt dispuse fasciculele conducătoare. Celulele epidermei pe alocuri formează peri scurți, unicelulari, mai rar bicelulari, aspri, arcuiți. Mezocarpul conține numeroase canale cu ulei volatil, pe fiecare mericarp câte 15-35 canale oleifere mici; în interiorul mezocarpului, de regulă, 2 canale mari. Învelișul canalelor de culoare galbenă.

Endocarpul și tegumentul seminal sunt concrescute, formând un strat subțire de culoare galbenă. Endospermul din celule mari, bogate în ulei gras, aleuronă și celule cu druze mici de oxalat de calciu. În secțiunile efectuate prin vârful fructului se observă embrionul.

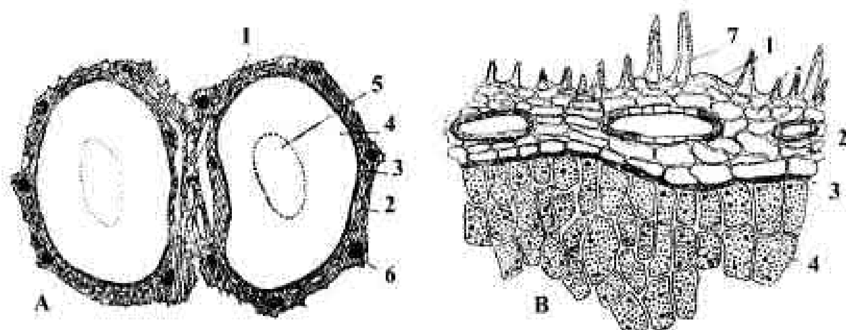


Fig. 29. **Fruct de anason:** *A* – schema secțiunii transversale prin fruct (x56); *B* – fragment al secțiunii transversale prin fruct (x280). *1* – epidermă; *2* – canale eterouleioase; *3* – endocarp; *4* – endospermul seminței; *5* – cotiledoanele embrionului; *6* – fascicul conducător; *7* – peri

FOENICULI FRUCTUS – fructe de fenicul
Planta producătoare: ***Foeniculum vulgare*** Mill. – fenicul
Fam. **Apiaceae**

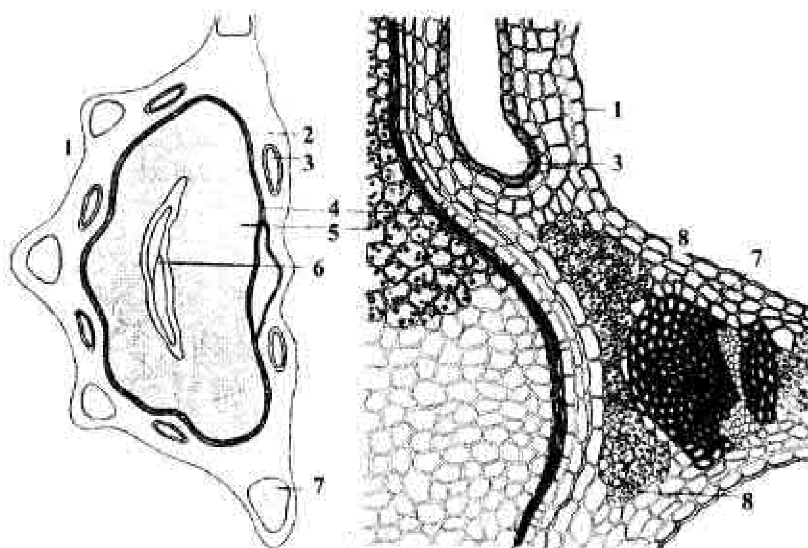


Fig. 30. **Fruct de fenicul:** *A* – secțiune transversală (x56); *B* – fragment din secțiunea transversală (x280). *1* – epidermă (exocarp); *2* – mezocarp; *3* – canale secretorii; *4* – endocarp; *5* – endospermul seminței; *6* – cotiledoanele embrionului; *7* – fascicul conducător; *8* – celulele mezocarpului cu pereții îngroșați reticulat

Caractere macroscopice: fructul – diachenă din două mericarpe, de obicei libere, mari, de 5-10 mm lungime și până la 3 mm în diametru, alungite; în partea lor supe-

rioară se observă resturile caliciului și stilului. În interior mericarpul este plat, la exterior – 5 coaste longitudinale foarte proeminente. Culoarea fructelor cenușie-verzuie, în adâncitura dintre coaste – cafenie. Gust dulceag, picant, miros puternic, caracteristic.

Caractere microscopice: secțiune transversală prin fruct *(fig. 30)*. În adânciturile dintre coaste sunt dispuse fascicule conducătoare mari, înconjurate de celule cu îngroșare reticulată. În dreptul adânciturilor 6 canale secretoare – 2 pe fața comisurală și 4 pe cea convexă. Uneori se întâlnesc canale – anexe mici, dispuse alături de cele principale, în interior cu un strat de celule secretorare brune. Endospermul din celule poligonale, cu pereții îngroșați, umplute cu aleuronă, ulei gras și druze mici de oxalat de calciu.

Impurificări posibile: fructe de mărar (*Anethum graveolens* L.), ovale, turtite din spate, galben-cenușii, coastele laterale în formă de aripă, de culoare galbenă-deschisă.

Miros picant, gust nedulce.

ORIGANI VULGARIS HERBA – părți aeriene de sovârv

Planta producătoare: ***Origanum vulgare*** L. – sovârv

Fam. **Lamiaceae**

Caractere macroscopice: amestec din frunze, vârfuri înflorite, flori obținut în urma înlăturării părților lemnoase ale tulpinii. Tulpina cu 4 muchii, este aspră, acoperită cu peri sau aproape glabră, verde, uneori colorată purpuriu. Frunze opuse, scurt pețiolate, alungit ovale, 2-4 cm lungime, cu marginea întreagă sau ușor dințată, vârf acuminat. Inflorescențe dicazial-corimbiforme, multiflore, rămuroase. Bracteele sunt mai lungi decât caliciul, alungite, ascuțite, de culoare purpurie-închisă sau verde-purpurie. Caliciul cu dințișori trilanceolați, glabru sau cu peri rari; colorația ca și la bractee. Corola bilabiată, de culoare purpurie-închisă sau roșie-violacee.

Mirosul aromat, gustul amărui, puțin astringent.

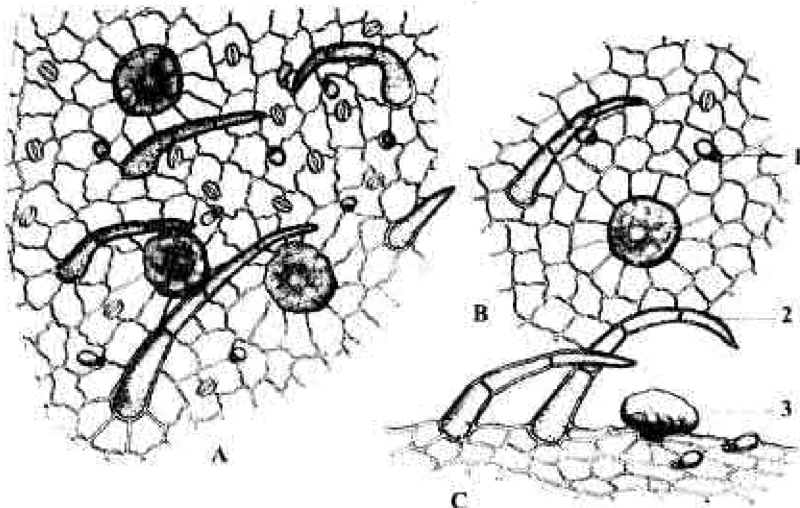


***Fig. 31.* Preparat superficial din frunza de sovârv (x280):** *A* – epiderma inferioară; *B* – epiderma superioară; *C* – marginea frunzei. *1* – peri glandulari; *2* – peri tectori; *3* – glandă secretoare

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 30)*. Celulele epidermei superioare cu pereţi slab sinuoşi, pe alocuri cu îngroşare moniliformă.

Epiderma inferioară din celule sinuoase, cu numeroase stomate caracteristice familiei Lamiaceae. Peri de două tipuri: tectori şi glandulari. Primii sunt numeroşi, aspru-verucoşi, mari, situaţi pe tot limbul frunzei, mai ales din partea inferioară (prin acest caracter frunza de sovârv diferă de cea de izmă-bună, la care perii tectori se întâlnesc în special pe nervuri). Perii glandulari au piciorul şi glanda monocelulară şi se întâlnesc pe tot limbul frunzei. Pe suprafaţa inferioară a frunzei glande eterouleioase octocelulare, prezente.

SERPYLLI HERBA – părţi aeriene de cimbrişor

Planta producătoare: ***Thymus serpyllum*** L. – cimbrişor

Fam. **Lamiaceae**

Caractere macroscopice: amestec din rămurele florifere şi frunze obţinute în urma fragmentării părţii aeriene şi înlăturării părţilor mari de tulpini. Tulpina este subţire, cu patru muchii. Frunzele mici, ovale, eliptice sau lanceolate, scurt peţiolate; la baza frunzei peri lungi, verucoşi, observaţi cu ochiul liber. Frunza cu lungimea de 15 mm şi lăţimea de 5-7 mm. Flori mici, solitare sau dispuse în verticile, caliciul bilabiat, pentadinţat, de culoare roşie-închisă, corola bilabiată, violet albastră. Fructele – nucule mici. Cu lupa sau la stereomicroscop, pe frunze, corolă, caliciu se observă numeroase glande eterouleioase.

Gustul aromat, puţin arzător, mirosul puternic, caracteristic.

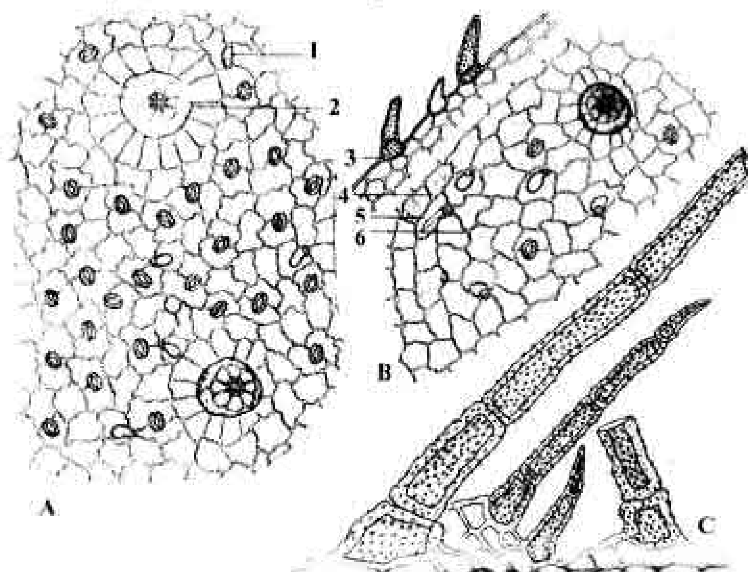


***Fig. 32.* Preparat superficial din frunza de cimbrişor (x280):** *A* – epiderma inferioară; *B* – epiderma superioară; *C* – peri la baza frunzei. *1* – peri glandulari; *2* – glande secretoare; *3* – peri tectori; *4* – cuticulă striată; *5* – peri mamelari; *6* – îngroşarea moniliformă a pereţilor celulari

Caractere microscopice: preparat superficial din frunze *(fig. 32)*. Celulele epidermei superioare şi inferioare ale frunzei au pereţii sinuoşi; pe epiderma superioară se

observă cuticula striată și îngroșări ale pereților. Stomatele sunt înconjurate de două celule. Glande eteroulcioase octocelulare, dispuse în depresiuni nu prea mari ale ambelor fețe, înconjurate de celulele epidermei în formă de rozetă. Perii de trei tipuri: 1) pluricelulari, verucoși, dispuși la baza frunzei („aspri"), mai sus, pe marginea limbului, se întâlnesc peri tectori mai mici; 2) glandulari, cu piciorul scurt și glanda ovală monocelulară; 3) excrescențe mamilare ale epidermei sub formă de peri conici.

THYMI VULGARIS HERBA – părți aeriene de cimbru

Planta producătoare: ***Thymus vulgaris*** L. – cimbru

Fam. **Lamiaceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din frunze, flori și tulpini subțiri (de la vârf), de diferită lungime și grosimea de 1 mm. Tulpinile sunt tetramuchiate, fără frunze sau cu frunze opuse și flori. Frunzele lanceolate sau eliptice, scurt pețiolate cu lungimea de 5-10 mm și lățimea de 2-5 mm. Marginea frunzei întreagă, recurbată spre fața inferioară, de aceea frunza are formă de tub și pare aproape liniară. Cu ajutorul lupei sau a stereomicroscopului se observă peri scurți (mai ales pe partea inferioară), care determină pubescența frunzei. Pe suprafața frunzei numeroase glande eteroulcioase strălucitoare, sferice, cu conținut roșu-brun sau chihlimbariu. Florile sunt separate sau unite în verticile, caliciul bilabiat, pentadințat, de culoare verde-deschisă, pe margine cu peri lungi; corola nectar bilabiată, de culoare roză. Fructele – nucule mici, în produsul vegetal se întâlnesc rar; prezența lor în cantități însemnate indică la o colectare târzie.

Mirosul puternic aromat, caracteristic; gust picant, puțin arzător.

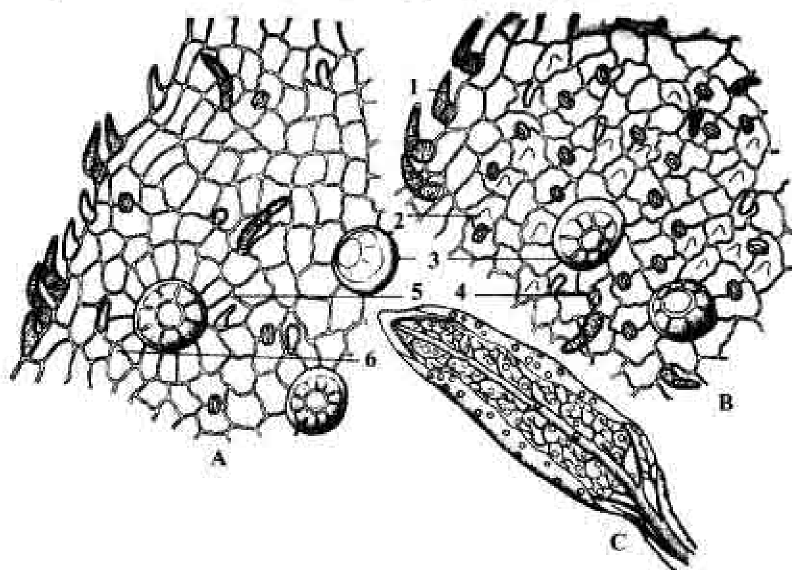


***Fig. 33.* Preparat superficial din frunza de cimbru (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară: *1* – păr tector geniculat; *2* – păr mamelar; *3* – glande secretoare; *4* – păr glandular; *5* – îngroșare moniliformă a pereților; *6* – cuticulă striată. *C* – aspect general al frunzei (x56)

Caractere microscopice: preparat superficial din frunze (*fig. 33*). Celulele epidermei superioare au pereții slab sinuoși, aplatisați, cu îngroșare moniliformă, cuticula

striată, iar ale celei inferioare puternic sinuoşi. Stomatele sunt înconjurate de două celule ale epidermei. Glande eterouleioase numeroase, mai ales pe partea inferioară a frunzei, formate din 8 (uneori până la 12) celule secretoare. În jurul glandelor celulele epidermei sunt dispuse radial, formând o rozetă. Peri de trei tipuri: 1) tectori, aspri verucoşi, bi- sau tricelulari, ultimii fiind îndoiţi şi de aceea se numesc „geniculaţi", abundenţi la baza frunzei, mai ales pe partea inferioară; 2) peri glandulari, cu piciorul şi glanda monocelulară, ovală; 3) peri mamelari monocelulari.

3.4.2. Analiza chimică

Proprietăţi fizico-chimice. Uleiurile volatile sunt lichide incolore, foarte rar colorate (din arborele de camfor – cafeniu-închis, de cimbru – roşiatic, de muşeţel şi coada-şoricelului – albastru-deschis, de obligeană – gălbui), cu miros şi gust specific. Majoritatea uleiurilor volatile sunt mai uşoare ca apa şi doar câteva dintre ele (de garofiţă, scorţişoară) au densitatea >1. Sub acţiunea oxigenului din aer şi a luminii multe dintre ele se oxidează treptat, schimbându-şi culoarea (se întunecă) şi mirosul. Unele după distilare sau la păstrare se îngroaşă. Se dizolvă foarte puţin sau practic nu se dizolvă în apă, dar la agitarea cu apă îi conferă miros şi gust. În uleiuri grase şi minerale, alcool, eter şi în alţi solvenţi organici se dizolvă bine. Sunt optic active, temperatura de fierbere 140-260 °C; au o anumită temperatură de congelare şi un coeficient de refracţie bine determinat, reacţia mediului este neutră sau acidă, în funcţie de structura lor.

La răcirea unor uleiuri volatile, uneori chiar la temperatura camerei, anumiţi componenţi cristalizează (anetol, mentol, timol, camfor). Partea solidă a uleiurilor volatile se numeşte *stearopten*, iar cea fluidă *eleopten*.

Metode de obţinere. Pentru obţinerea uleiurilor volatile din produsul vegetal se aplică diferite procedee: distilarea cu vapori de apă; distilarea cu aburi supraîncălziţi sub presiune mărită; distilarea sub presiune mică; extracţia cu solvenţi apolari volatili; extracţia cu grăsimi lichide sau solide (solvenţi nevolatili); extracţia cu gaze supercritice; presarea.

Identificarea uleiurilor volatile din produse vegetale

Detectarea organoleptică. Prima informaţie asupra prezenţei uleiurilor volatile se face prin stabilirea culorii, mirosului şi gustului produsului examinat.

Culoarea (şi transparenţa) se determină trecând 10 ml de ulei într-un cilindru de sticlă transparentă, incoloră, cu diametrul 2-3 cm, şi se cercetează la lumină.

Mirosul se determină în felul următor: 0,1 ml (2 picături) de ulei se aplică pe o fâşie de hârtie de filtru cu lungimea de 12 cm şi lăţimea 5 cm, astfel ca uleiul să nu umezească marginea hârtiei şi mirosul probei de analizat peste fiecare 15 minute se compară cu mirosul probei de control, aplicată în acelaşi mod pe hârtie de filtru. Timp de o oră mirosul trebuie să fie identic cu mirosul probei de control.

Gustul se identifică atingând de limbă fâşia hârtiei de filtru îmbibată cu ulei sau granule de amestec dintr-un 1 g de zahăr-farin cu o picătură de ulei analizat.

Reacţia cu sudan III sau tinctură de alcanna. 0,10 g produs vegetal pulverizat se tratează cu o picătură de sudan III sau cu o picătură tinctură de *alcanna*. Se lasă în repaus o jumătate de oră, apoi se examinează la microscop puţină pulbere într-o picătură de glicerol, iar excesul de reactiv se îndepărtează cu hârtie de filtru. Picăturile din câmpul microscopic, colorate în galben-roşu (cu sudan III) sau în roşu (cu tinctură de

alcanna), indică prezența unui ulei volatil sau a unui ulei gras. Diferențierea se face în felul următor: 0,10 g pulbere se tratează cu 3-5 ml soluție alcoolică KOH, prin încălzire ușoară. În cazul uleiurilor grase, pulberea, privită la microscop, prezintă cristale izolate sau asociate ale sărurilor acizilor grași (saponificare). Uleiurile volatile nu dau cea de-a doua reacție.

Localizarea uleiurilor volatile. Determinarea formațiunilor anatomice în care sunt localizate uleiurile volatile se face prin executarea reacției cu sudan III sau cu tinctură de *alcanna*, direct pe lama de sticlă. Secțiunea se lasă în reactiv, acoperind-o cu o lamelă, timp de o jumătate de oră sau mai mult, apoi reactivul se îndepărtează cu o hârtie de filtru, se adaugă o picătură de glicerol și se examinează la microscop, urmărind structurile anatomice care se colorează în galben-roșu (cu Sudan III) sau în roz (tinctura cu *alcanna*).

Identificarea proazulenelor din produse vegetale (reacția EP)

Principiul reacției constă în transformarea proazulenelor (incolore) din produsul vegetal în azulene (albastre), cu ajutorul reactivului EP la cald. Numele reactivului reprezintă inițialele celor doi acizi din compoziția sa în limba germană: *Essigsaure, Phosphorsaure* (acid acetic, acid fosforic). Pentru aceasta într-o eprubetă se iau 0,10 g pulbere de *Chamomillae flores* sau *Millefolii flores* și 2,5 ml de reactiv EP. Eprubeta se încălzește la flacără și se fierbe 2-3 minute. Reacția se consideră pozitivă când lichidul se colorează în albastru sau verde și negativă când culoarea lui devine galbenă, roșcată sau brună.

Determinarea temperaturii de solidificare se face într-un aparat special, care constă dintr-un vas cu amestec de răcire, în care se introduce eprubeta cu ulei. Înălțimea stratului de ulei trebuie să fie de cel puțin 5 cm. Cu ajutorul termometrului se stabilește cea mai înaltă temperatură, care din momentul solidificării substanței rămâne un scurt timp constantă și se consideră drept temperatura ei de solidificare.

Determinarea impurităților

Alcool etilic. Câteva picături de ulei se picură pe apa turnată pe o sticlă de ceas și se urmărește pe fond negru: în jurul picăturilor de ulei nu trebuie să fie opalescență evidentă.

1 ml de ulei se toarnă în eprubetă, care se astupă cu vată, în mijlocul căreia se pune un cristal de fuxină. Eprubeta se încălzește până la fierbere: vaporii de alcool dizolvă fuxina și colorează vata în roșu.

Uleiurile grase și minerale. 1 ml de ulei volatil se agită în eprubetă cu 10 ml alcool etilic de 90 %; nu trebuie să apară opalescență și picături grase.

Apa. Conținutul de apă se determină prin metoda de distilare.

Determinarea indicilor numerici

Densitatea uleiului volatil se determină cu picnometrul conform DAN.

Unghiul de rotație al suprafeței polarizate se determină cu ajutorul polarimetrului. În funcție de natura substanței, rotația suprafeței polarizate poate avea direcție și mărime diferite. Dacă de la observator, înspre care e îndreptată lumina ce trece prin substanța optic activă, planul de polarizare deviază la dreapta (în direcția acelor de ceasornic), atunci substanța se numește dextrogiră și înainte de denumire se adaugă indicele *d* sau semnul «+». Dacă planul de polarizare deviază la stânga (împotriva acelor de ceasornic), atunci substanța se numește levogiră și înainte de denumire se pune

indicele *l* sau semnul «–». Mărimea devierii planului polarizat de la poziția inițială, exprimată în grade de unghi, se numește unghi de deviere și se notează cu litera greacă α.

Determinarea devierii optice se efectuează la temperatura de 20 °C și lungimea de undă a liniei spectrului de sodiu de 589,3 nm. Tubul polarimetrului se umple cu ulei analizat în așa fel ca să nu nimerească aer, apoi se instalează în polariscop. Rotind alidada, găsim o astfel de poziție când la o întoarcere neînsemnată a ei umbra puternică este schimbată de un semicerc bine iluminat sau invers. Între aceste două poziții se stabilește poziția medie a semiumbrei: când tot câmpul vizibil este iluminat egal, alidada se fixează și se calculează unghiul de rotație. Pentru *Oleum Menthae piperitae* unghiul de rotație trebuie să fie de cel puțin 18°, pentru *Oleum Eucalypti* – de la 0 până la + 10°.

Indicele de refracție se determină cu refractometrul. Indicele de refracție este raportul dintre viteza de răspândire a luminii în aer și viteza de răspândire a luminii în substanța de analizat. Indicele de refracție depinde de natura substanței, de temperatură și de lungimea de undă a luminii.

Refractometrul are două prisme, cea de sus poate să se ridice înainte de a începe determinarea. Pe prisma de jos a refractometrului se aplică 1-2 picături de lichid, apoi se lasă în jos prisma de sus și se strânge strâns. Fasciculul de lumină se îndreaptă cu ajutorul oglinzii în ferestruica de sus a prismei. Rotind mânerul, cele trei linii marcate pe diametrul cercului se suprapun pe granița clarobscură. Mânerul compensatorului se rotește până când coincide granița părții câmpului întunecat și deschis cu cele trei linii.

Valoarea indicelui de refracție se calculează după scara din stânga, cu exactitate de patru cifre. Periodic refractometrul trebuie controlat cu apă distilată, care are indicele de refracție 1,3330 la 20 °C. Indicele de refracție a unor uleiuri: *Oleum Menthae piperitae* – 1,456-1,470; *Oleum Eucalypti* – 1,458-1,470; *Oleum Anisi* – 1,552-1,561; *Oleum Coriandri* – 1,462-1,468; *Oleum Foeniculi* – 1,528-1,539; *Oleum Lavandulae* – 1,453-1,466; *Oleum Salviae* – 1,455-1,465; *Oleum Absinthi* – 1, 453-1,458.

Indicele de aciditate este cantitatea de KOH (în miligrame), necesară pentru neutralizarea acizilor liberi dintr-un gram de substanță de analizat. De obicei, cantitatea de acizi în uleiul volatil este neînsemnată, dar la păstrare îndelungată, în urma proceselor de oxidare, cantitatea de acizi se mărește.

Proba de ulei volatil 1,5-2,0 g, luată cu precizie de 0,01 g, se dizolvă în 5 ml alcool etilic 95%, în prealabil neutralizat după fenolftaleină cu soluție de NaOH 0,1 N (dacă e necesar, se încălzește cu refrigerent pe baia de apă până la dizolvare completă). Se adaugă 1 ml soluție fenolftaleină și se titrează la agitare cu NaOH 0,1 N până la apariția culorii roz, stabilă timp de 30 secunde.

1 ml de NaOH 0,1 N coincide cu 5,61 mg de KOH. Indicele de aciditate se calculează după formula:

$$\text{Indice de aciditate} = \frac{V \times 5{,}61}{m},$$

în care: *V* – volumul de NaOH 0,1 N consumat la titrare, ml; *m* – masa probei uleiului volatil, g.

Indicele eteric este cantitatea de KOH (în miligrame) necesară pentru saponificarea esterilor ce se conțin într-un gram de substanță de analizat.

Indicele eteric se determină în soluția obținută după aflarea indicelui de aciditate. La soluția sus-numită se adaugă 20 ml soluție alcoolică KOH 0,5 N și se încălzește pe

baia de apă în balonul unit cu refrigerentul de aer (diametrul tubului 1 cm, lungimea 100 cm) timp de o oră de la începutul fierberii. La terminarea saponificării soluția se diluează cu 100 ml de apă și surplusul de KOH se titrează cu H_2SO_4 0,5 N (indicator fenolftaleina).

Indicele eteric x se calculează după formula:

$$x = \frac{28{,}05 \times V}{m},$$

în care: V – volumul de KOH 0,5 N, consumat la saponificarea eterilor, ml; m – masa probei de ulei, g; 28,05 – masa de KOH, mg conținută în 1 ml de soluție alcoolică de KOH de 0,5 N.

Indicele eteric după acetilare reprezintă cantitatea de KOH (în miligrame), necesară pentru saponificarea esterilor care se conțin inițial într-un gram de ulei și a celor formați la acetilare. Determinarea se face în felul următor: 10 g de ulei se toarnă în balonul special pentru acetilare, unit prin șlif cu refrigerentul de aer, se adaugă 10 ml de anhidridă acetică și aproximativ 2 g acetat de sodiu anhidru. Amestecul se fierbe 2 ore pe baia de nisip. După răcire, se adaugă 20 ml apă și din nou se încălzește 10-15 min pe baia de apă, periodic agitând balonul pentru a transforma anhidrida acetică, care n-a intrat în reacție, în acid acetic. Apoi amestecul se trece în pâlnia de separare cu capacitatea de 100 ml și se separă stratul de ulei, care se spală la agitare cu 50 ml soluție saturată NaCl (în câteva porții) până la reacția neutră a apelor de spălat (indicator – metiloranj), apoi cu 20 ml de apă pentru înlăturarea urmelor de NaCl. Uleiul spălat se deshidratează cu Na_2SO_4 anhidru și se filtrează.

1-2 g de ulei volatil obținut (cu eroarea nu mai mare de 0,01 g) se cântărește în balonul conic, se dizolvă în 5 ml de alcool etilic, se neutralizează cu soluție alcoolică de KOH 0,5 N și se determină indicele eteric (cum e descris mai sus), folosind pentru calcul aceeași formulă.

Conținutul de esteri ori de alcooli legați x_1 (conținutul procentual) se calculează după formula:

$$x_1 = \frac{\text{indice eteric} \times M}{561},$$

în care: M – masa moleculară a eterului sau alcoolului.

Conținutul de alcooli liberi x_2 (conținutul procentual) se determină după formula:

$$x_2 = \frac{(\text{indice eteric după acetilare} - \text{indice eteric}) \times M}{561 - 0{,}42 \ (\text{indice eteric după acetilare} - \text{indice eteric})},$$

în care: M – masa moleculară a eterului sau alcoolului.

Conținutul total al alcoolilor x_3 se exprimă prin totalul alcoolilor liberi și legați.

Conținutul de fenoli se determină în felul următor: în balonul *Kasiev* de 200-250 ml cu gâtul gradat a câte 10 ml (eroare admisibilă – 0,01 ml) se adaugă cu pipeta 5 ml ulei și 150 ml soluție NaOH 5 % și se agită 15 minute. Uleiul limpezit se introduce în gâtul gradat al balonului, adăugând soluție NaOH 5 %. După o oră se calculează cantitatea de ulei care nu a intrat în reacție.

Cantitatea procentuală a fenolilor x_4 se calculează după formula:

$$x_4 = (5 - V) \times 20,$$

în care: V – volumul uleiului care n-a intrat în reacție cu soluția NaOH, ml (temperatura uleiului la introducerea în balon și în timpul măsurării trebuie să fie aceeași).

Identificarea componenților uleiului volatil

Una dintre metode de determinare a componenților uleiului volatil este cromatografia gazofluidă. Ea este bazată pe divizarea substanțelor între două faze separate, dintre care una este imobilă – lichidul, iar alta mobilă – gazul. Faza imobilă prezintă un lichid macromolecular (polietilenglicol, balsamul *Şostakovski*), care în prealabil se aplică pe un exponent solid (cromosorb). Ca fază mobilă se folosește unul dintre gazele inerte: heliu, hidrogen, azot. Partea principală a cromatografului este coloana umplută cu fază imobilă, prin care se mișcă gazul-exponent. Separarea substanțelor se produce pe contul diferenței gradului de solubilitate a substanțelor K în lichid și gaz. Parametrii principali ai cromatografului gazofluid sunt: lungimea și diametrul coloanei; fazele – mobilă și imobilă; exponentul solid; detectorul; temperatura vaporizatorului, coloanei și detectorului; viteza gazului-exponent și a bandei diagramei.

Determinarea cantitativă a componenților colorați ai uleiului volatil – *azulenelor*, se efectuează prin *fotoelectrocolorimetrie*. Conținutul derivaților azulenici se determină conform graficului de calibrare, construit cu ajutorul soluției de 2,6-diclorfenolindofenol.

Cantitatea *cineolului* în uleiul volatil se determină după extracția în prealabil a produsului vegetal cu hexan și măsurarea ulterioară a densității optice. Fâșia analitică de absorbție la 990 cm. Cantitatea de cineol se determină conform curbei de calibrare.

Pentru determinarea cantitativă a componenților uleiului volatil ce au *grupă cetonică* (de tipul camforului), se folosește titrarea acido-bazică a produselor de oximare sau se determină densitatea optică a produselor de acțiune reciprocă dintre oxime cu sărurile fierului trivalent.

Pentru identificarea componenților uleiului volatil se aplică și metode spectroscopice: ultraviolete, infraroșii, RMP și CLIP.

Identificarea eugenolului și anetolului din uleiuri volatile prin CSS

Soluții de analizat: soluții cloroformice 1 % de *Caryophylli aetheroleum*, *Anisi aetheroleum*, *Foeniculi aetheroleum*.

Soluții etalon: 0,02 ml eugenol și anetol în câte 5 ml cloroform.

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: toluen:acetat de etil (9:1).

Revelare: pulverizare cu vanilină sulfurică, apoi încălzire în etuvă timp de 3-5 minute la 110 °C.

Rezultate: eugenol (Rf = 0,7) culoare cafenie, în *Caryophylli aetheroleum*; anetol (Rf = 0,9) culoare brun-violacee, în *Anisi aetheroleum* și *Foeniculi aetheroleum*.

Identificarea linaloolului și acetatului de linalil din *Coriandri aetheroleum* **și** *Lavandulae aetheroleum* **prin CSS**

Soluții de analizat: soluții cloroformice 1 % de *Coriandri aetheroleum* și *Lavandulae aetheroleum*.

Soluții etalon: 0,02 ml linalool, respectiv acetat de linalil în câte 5 ml cloroform.

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: toluen:acetat de etil (90:10).

Revelare: pulverizare cu vanilină sulfurică (R), apoi încălzire în etuvă 3-5 minute la 110 °C.

Rezultate: examinarea şi delimitarea spoturilor se face la lumina zilei: linalool (R_f = 0,40) – albastru; acetat de linalil (R_f = 0,80) – albastru; în *Coriandri aetheroleum* predomină linaloolul, iar în *Lavandulae aetheroleum* componenta majoritară este acetatul de linalil.

Identificarea mentolului şi carvonei din *Menthae aetheroleum, Menthae crispae aetheroleum* **şi** *Carvi aetheroleum* **prin CSS**

Soluţii de analizat: soluţii cloroformice 1 % de *Menthae aetheroleum, Carvi aetheroleum* şi *Menthae crispae aetheroleum.*

Soluţii etalon: 0,02 g de mentol, 0,02 ml carvonă în câte 5 ml cloroform.

Faza staţionară: silicagel G.

Faza mobilă: toluen:acetat de etil (90:10).

Revelare: pulverizare cu vanilină sulfurică, apoi încălzire în etuvă 3-5 minute la 110 °C.

Rezultate: mentolul (Rf = 0,30) – albastru, carvona (Rf = 0,60) – violet-cafeniu. În *Menthae aetheroleum,* mentolul este componenta majoritară, iar carvonă lipseşte; în *Menthae crispae aetheroleum* componenta principală este carvona, ca şi în *Carvi aetheroleum.*

Dacă revelarea se face cu o soluţie de 2,4-dinitrofenilhidrazină, carvona se colorează în portocaliu intens.

Identificarea eucaliptolului în uleiuri volatile prin CSS

Soluţii de analizat: soluţii cloroformice 1 % de *Eucalypti aetheroleum, Rosmarini aetheroleum.*

Soluţia etalon: 0,02 ml eucaliptol în 5 ml cloroform.

Faza staţionară: silicagel G.

Faza mobilă: toluen:acetat de etil (9:1).

Revelare: pulverizare cu vanilină sulfurică, apoi încălzire în etuvă 3-5 minute la 110 °C.

Rezultate: eucaliptol (Rf = 0,60), culoare albastră.

Identificarea timolului din uleiuri volatile prin CSS

Soluţii de analizat: soluţii cloroformice 1 % de *Thymi aetheroleum, Serpylli aetheroleum.*

Soluţia etalon: 0,02 ml timol în 5 ml cloroform.

Faza staţionară: silicagel G.

Faza mobilă: toluen:acetat de etil (9:1).

Revelare: pulverizare cu vanilină sulfurică, apoi încălzire în etuvă 3-5 minute la 110 °C.

Rezultate: timol (Rf= 0,70), spot de culoare roz-roşie.

Determinarea concentraţiei azulenice din *Millefolii aetheroleum*

Într-un balon cotat de 25 ml se introduc 0,05 ml ulei volatil şi se completează până la semn cu benzen. Se citeşte extincţia dată de soluţia albastră la 625 nm. Se calculează concentraţia azulenică faţă de o soluţie de guajazulenă (azulenă) de concentraţie cunoscută sau prin extrapolare din curba etalon, construită pe baza extincţiilor date de soluţii preparate în acelaşi fel cu 0,01 g, 0,02 g, 0,04 g, 0,08 g de azulenă în 100 ml benzen.

Identificarea pulberii de *Foeniculi fructus* prin emulsionarea anetolului

Într-o eprubetă se introduc 0,20 g de pulbere de *Foeniculi fructus* şi 5 ml etanol 90 %. Amestecul se încălzeşte pe baia de apă şi se menţine în fierbere timp de 2 minute. Se filtrează, iar peste filtratul răcit se adaugă 10 ml apă de distilată. Se formează o emulsie a anetolului în apă, iar lichidul capătă un aspect tulbure, lăptos, cu gust şi miros caracteristice.

Reacţii de identificare pentru aldehida cinamică

- 0,10 g pulbere de scorţişoară se tratează cu 2 ml cloroform şi se agită 15 minute; după filtrare, solventul se evaporă cu grijă pe baia de apă; reziduul se tratează cu câteva picături de soluţie clorhidrat de fenilhidrazină 10 %. Se formează cristale aciculare, galbene, datorită formării fenilhidrazonei aldehidei cinamice.
- 0,10 g pulbere de scorţişoară se tratează cu 3-4 ml apă şi se fierb timp de 1-2 minute. Din filtrat se depun pe o lamă de microscop 2 picături de soluţie extractivă, se tratează cu 2 picături sulfat de hidrazină de 0,65 %. După 10 minute se examinează la microscop. Se pot observa cristale aciculare, slab gălbui (hidrazona aldehidei cinamice). Reacţia poate fi efectuată şi pe microsublimat.

Identificarea aldehidei cinamice din *Cinnamomi aetheroleum* prin CSS

Soluţii de analizat: soluţie cloroformică 1 % de *Cinnamomi aetheroleum*.

Soluţii etalon: 0,02 g aldehidă cinamică în 5 ml cloroform.

Faza staţionară: silicagel G.

Faza mobilă: toluen:acetat de etil (9:1).

Revelare: pulverizare cu 2,4-dinitrofenilhidrazină (DNFH).

Rezultate: aldehida cinamică (Rf =0,50), culorată în galben-închis, pe fond galben.

Identificarea cromatografică a azulenei din *Millefolii aetheroleum*

Soluţia de analizat: 0,05 ml de *Millefolii aetheroleum* în 5 ml cloroform.

Soluţia etalon: 0,02 g azulenă în 5 ml cloroform.

Faza staţionară: silicagel G.

Faza mobilă: toluen: acetat de etil (9:1).

Revelare: pulverizare cu vanilină sulfurică, apoi încălzire în etuvă 3-5 minute la 110 °C.

Rezultate: azulena se separă la Rf = 0,90, fiind colorată în albastru-azuriu. Tratată cu acid sulfuric concentrat, trece în roşu viu.

Determinarea cantitativă (dozare) a uleiurilor volatile în produse vegetale

Determinarea cantitativă a uleiurilor volatile în produs vegetal se efectuează prin distilarea cu vapori de apă, măsurând ulterior volumul lui. Distilarea se efectuează într-un balon unit cu refrigerentul ascendent. Conform FS, sunt mai multe metode de dozare a uleiurilor volatile. După metoda 1 recipientul se fixează în interiorul balonului; după metodele 2a şi 2b recipientul se află în afara balonului. Metoda 2c se aplică atunci când uleiurile volatile la distilare suferă modificări (formează emulsie, se întăresc) sau au densitatea mai mare ori aproape de unitate. Distilarea se efectuează cu folosirea decalinei, care absoarbe uleiul volatil.

Metoda 1. Determinarea se realizează în aparatul reprezentat pe *fig. 34*. Proba de produs vegetal se introduce în balonul de 700-800 ml, cu fundul rotund sau plat (1), se adaugă 300 ml apă şi se astupă cu un dop de cauciuc (2) prin care trece refrigerentul

(3). De cârligele metalice ale dopului cu ajutorul firelor de sârmă subţire, se suspendează recipientul gradat (capătul refrigerentului trebuie să se situeze deasupra dilatării în formă de pâlnie a recipientului fără să se atingă de el). Valoarea diviziunii părţii gradate a recipientului constituie 0,025 ml. Recipientul trebuie să treacă liber prin gâtul balonului, fără a atinge pereţii lui, şi să se găsească la cel puţin 50 mm de la suprafaţa apei. Conţinutul balonului se încălzeşte până la fierbere şi apoi se fierbe la foc mic cât este indicat în paragrafele corespunzătoare fiecărui produs vegetal.

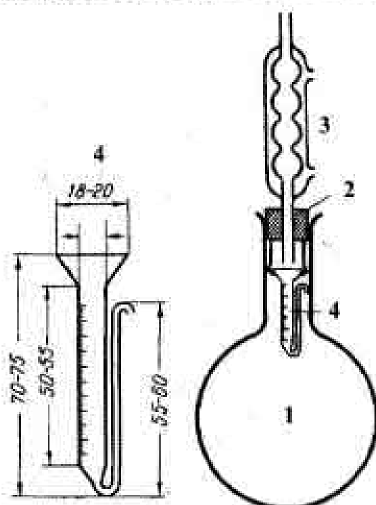


***Fig. 34.* Aparat pentru determinarea uleiului volatil în produsul vegetal (FS, metoda 1):** *1* – balon; *2* – dop de cauciuc; *3* – refrigerent; *4* – recipient gradat

Aburii de apă şi ulei volatil se condensează în refrigerent şi lichidul se prelinge în recipient. Uleiul se colectează în partea gradată a recipientului, iar apa prin partea îngustă a recipientului se scurge înapoi în balon.

După terminarea distilării şi după răcire se calculează volumul stratului de ulei volatil şi conţinutul lui procentual după formula:

$$X = \frac{V \times 100 \times 100}{m \times (100 - w)},$$

în care: V – volumul uleiului volatil, ml; m – masa probei de produs vegetal, g; *w* – pierderea din masa produsului vegetal la uscare, %.

Pentru determinarea uleiului volatil prin metodele 2a şi 2b se foloseşte aparatul reprezentat pe fig. 35 care constă din balon pentru distilare (1) cu capacitatea de 1000 ml, tub contort de conducere a vaporilor (2), refrigerent (3), recipient gradat (4) cu robinet (5) şi tub de colectare (9). Între refrigerent şi recipient se află pâlnia (6) cu un tub lateral (7) pentru introducerea solventului în distilat.

Înainte de fiecare determinare, aparatul se curăţă prin trecerea aburilor timp de 15-20 minute. După 6-8 determinări aparatul se spală cu acetonă, apoi cu apă.

Metoda 2a. Proba de produs vegetal mărunţit se introduce în balon şi se adaugă 300 ml apă. Prin şlif balonul se uneşte cu tubul de conducere a aburului şi tubul gradat. Acesta se umple cu apă de la robinet cu ajutorul furtunului, care se termină cu o pâlnie. Conţinutul balonului se fierbe intensiv, astfel ca viteza de scurgere să fie de 60-

65 picături pe minut în timpul indicat în monografii farmacopeece. Peste 5 minute după terminarea distilării se calculează volumul uleiului volatil în partea gradată a recipientului. Pentru aceasta se deschide robinetul şi distilatul se scurge până la un anumit nivel al gradaţiilor de pe tub. Conţinutul procentual al uleiului volatil se calculează ca şi în metoda 1.

Metoda 2b. Proba de produs vegetal mărunţit se introduce în balon şi se adaugă 300 ml de apă. Balonul se uneşte cu tubul de conducere a vaporilor şi cu tubul gradat care se umple cu apă de la robinet cu ajutorul furtunului de cauciuc, care se termină cu o pâlnie. Apoi, prin tubul lateral, cu ajutorul pipetei se toarnă în recipient 0,5 ml decalină şi se măsoară exact volumul luat de decalină, coborând nivelul lichidului în partea gradată a tubului recipientului. Mai departe se procedează ca şi în metoda 2a.

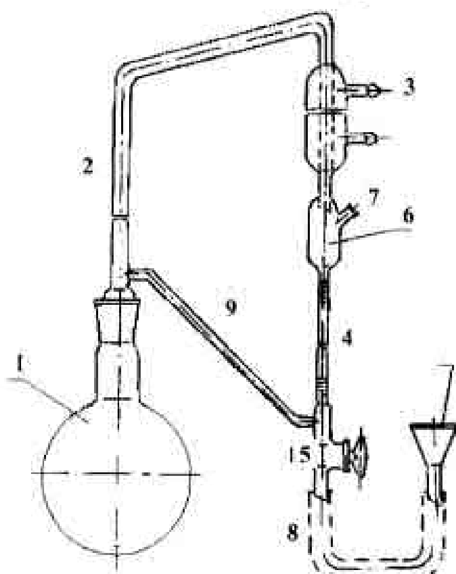


***Fig. 35.* Aparat pentru determinarea uleiului volatil în produsul vegetal (FS, metoda 2a, 2b):** *1* – balon; *2* – tub contort de conducere a vaporilor; *3* – refrigerent; *4* – recipient gradat; *5* – robinet; *6* – dilatare a recipientului; *7* – tub lateral al recipientului; *8* – furtun de cauciuc; *9* – tub de scurgere

Volumul decalinei se scade din volumul soluţiei de ulei în decalină şi se calculează cantitatea uleiului volatil în procente de volum–greutate după formula:

$$x = \frac{(V - V_1) \times 100 \times 100}{m \times (100 - w)},$$

în care: V – volumul soluţiei de ulei volatil în decalină, ml; V_1 – volumul decalinei, ml; m – masa probei de produs vegetal, g; w – pierderea din masa produsului vegetal la uscare, %.

Determinarea cantitativă a uleiurilor volatile din produse vegetale prin antrenare cu vapori de apă, în circuit închis, într-un aparat special de tip *neo-Clevenger* sau variante ale acestui tip (FRX).

Masa produsului vegetal pulverizat şi volumul de apă, prevăzute în *tabelul 5,* se introduc într-un balon (a) care se adaptează la un aparat de distilare. Tubul gradat în diviziuni de 0,01 ml şi partea inferioară a separatorului (c) se umplu cu apă prin tubul

(b) care se închide apoi cu dopul (b'), străbătut de un canal. Se încălzește balonul astfel încât apa să fiarbă și să se distileze cu o viteză moderată. După terminarea distilării, se oprește circuitul apei din refrigerent și se lasă să circule vaporii timp de câteva minute pentru a spăla refrigerentul de urmele de ulei aderent. Când refrigerentul s-a încălzit pe toată lungimea sa, se lasă să circule din nou apa și se oprește sursa de căldură. După 30 minute se coboară încet stratul de ulei în tubul gradat, prin deschiderea robinetului (d), se citește volumul de ulei (ml) și se raportează la 100 g produs vegetal.

Tabelul 5

Durata distilării diferitor produse vegetale

Produs vegetal	Cantinatea de produs vegetal (g)	Apă (ml)	Xilen (ml)	Durata distilării (ore)
Absinthii herba	50	700	0,5	4
Anisi vulgaris fructus	10	200	**0,5**	3
Aurantii pericarpium	20	200	-	3
Chamomillae flos	35	500	0,5	4
Eucalypti folia	10	200	-	3
Foeniculi fructus	10	200	-	3
Juniperi fructus	25	250	-	3
Menthae folia	30	450	-	3
Millefolii flores	70	1000	0,5	4
Thymi herba	30	450	-	3
Valerianae rhizoma	50	700	0,5	4

Pentru uleiurile volatile cu greutatea specifică apropiată de 1 sau mai mare de 1, ca și pentru uleiurile vâscoase, se adaugă la începutul determinării, în separatorul aparatului, 1 ml xilen (d_{20} = 0,85, punctul de fierbere = 137–140 °C). Uleiul volatil formează cu xilenul un amestec cu densitatea mai mică decât 1 și lipsit de vâscozitate. Volumul de xilen se scade din volumul de lichid supernatant, separat la sfârșitul determinării.

În cazul florilor de mușețel, pe lângă adaosul de xilen, se prevede adăugarea a 200 ml glicerol și 0,5 g acid ascorbic sau clorură de sodiu în apa în care se fierbe produsul. Glicerolul, în proporție de 40 % din volum (respectiv clorura de sodiu), produce o creștere a temperaturii de fierbere din balon la până 106 °C. Împreună cu acidularea asociată, se creează condițiile cele mai favorabile pentru transformarea proazulenelor în azulene.

Dozarea componenților uleiurilor volatile

Determinarea cantitativă a mentolului total din *Menthae aetheroleum*

Tehnica de lucru: într-un pahar *Erlenmayer* de 50 ml se adaugă cu micropipeta 0,01 ml *Menthae aetheroleum*, la care se adaugă 10 ml metanol. Într-o eprubetă se amestecă 0,10 ml din soluția metanolică, 0,90 ml metanol și 5 ml soluție p-dimetioaminobenzaldehidă (*R. Van-Urk*). Conținutul se omogenizează cu o baghetă și se menține 3 minute pe baia de apă în fierbere. După răcire (sub curent de apă) se citește extincția la spectrofotometru (A = 500 nm). Concentrația de mentol se calculează prin extrapolare din curba etalon (atenție la diluții!).

Pentru stabilirea curbei etalon, se cântăresc 0,0500 g mentol p.a. şi se dizolvă în metanol într-un balon cotat de 50 ml (0,10 %). Se măsoară exact 2,5 ml din soluţia obţinută şi se transferă într-un balon cotat de 25 ml, aducându-se până la cotă cu metanol (0,010 %).

Din soluţia 0,010 % se iau în 3 eprubete câte 0,20 ml, 0,40 ml şi, respectiv, 0,60 ml şi se diluează adăugându-se câte 0,80 ml, 0,60 ml şi, respectiv, 0,40 ml metanol. Se adaugă în fiecare eprubetă câte 5 ml soluţie p-dimetilaminobenzaldehidă (reactiv), se omogenizează şi se menţin timp de 3 minute într-o baie de apă la fierbere. Se citesc la spectrofotometru (λ=500 nm) valorile extincţiilor corespunzătoare celor 3 soluţii şi pe baza lor se construieşte curba etalon.

Determinarea cantitativă a mentolului în *Oleum Menthae piperitae*. În balonul cu dop rodat pentru saponificare se ia 1 g (exactitatea 0,01 g) de ulei de izmă-bună. La probă se adaugă exact 4 ml (cu pipeta automată) amestec de acetilare, se astupă cu dopul şi se lasă pentru o oră. Apoi balonul se uneşte prin şlif cu refrigerentul şi amestecul se încălzeşte pe baia de apă. Se adaugă 20 ml apă (50-60 °C), se agită, se toarnă cu pipeta automată 20 ml soluţie NaOH 0,5 N şi se titrează din biuretă cu aceeaşi soluţie de NaOH, în prezenţa fenolftaleinei, până la apariţia culorii roz. Paralel se efectuează proba de control. Conţinutul procentual al mentolului liber x se calculează după formula:

$$x=\frac{(V-V_1)\times 156,26}{20\,m},$$

în care: m – masa probei de ulei volatil, g; V – volumul de NaOH 0,5 N cheltuit la titrarea probei de control, ml; V_1 – volumul de NaOH 0,5 N cheltuit la titrarea probei de analizat, ml.

Conţinutul mentolului liber trebuie să fie de cel puţin 46 %.

Determinarea cantitativă a mentolului în *Oleum Menthae piperitae* **prin cromatografia gazo-lichidă.** Analiza se efectuează în cromatograful de laborator cu gaz pe coloane fixate în formă de S, cu lungimea de 3 m şi diametrul interior 4 mm. Exponentul solid – cromosorb W (60-80 meşi), faza imobilă – polietilenglicolul, gazul-exponent – heliul, în calitate de detector – catarometrul. Temperatura în termostat – 200 °C, în vaporizator – 250 °C, în coloană – 130 °C.

În vaporizator se introduc 0,4 μl de ulei de izmă-bună. Viteza gazului exponent e de 80 ml/min, viteza bandei pentru diagrame – 20 mm/min; scara înscrierii – 1:2.

Pe cromatogramă se observă 2 picuri diferite care corespund componenţilor uleiului de izmă-bună. Calitatea uleiului se apreciază după timpul de menţinere a componenţilor individuali. Pentru identificarea componenţilor, la proba de ulei se adaugă mentol pur şi proba se introduce din nou în coloană. Pe cromatogramă, înălţimea picului A se măreşte proporţional cu mentolul introdus, deci picul corespunde conţinutului de mentol.

Calculul conţinutului procentual al componenţilor uleiului de izmă-bună se efectuează după formula:

$$x_A=\frac{S_A\times 100}{S_A+S_B},$$

în care: S_A, S_B – suprafaţa picului, egală cu produsul înălţimii picului şi lăţimea lui la jumătate din înălţime; x_A – conţinutul procentual al mentolului.

Determinarea cantitativă a cineolului în *Oleum Eucalypti*. În balonul de 100 ml cu gât gradat la 4 ml (eroare admisibilă 0,1 ml) se introduc 3 ml de ulei și 75 ml soluție de rezorcină. Amestecul se agită 15 minute, apoi se adaugă soluție de rezorcină, până când uleiul decantat este colectat în partea gradată a balonului. După o oră se determină volumul uleiului care n-a intrat în reacție. Măsurarea uleiului pentru analiză și calculul uleiului ce n-a reacționat se efectuează la aceeași temperatură.

Conținutul procentual al cineolului după volum x se calculează conform formulei:

$$x = \frac{(3 - V) \times 100}{3},$$

în care: V – volumul uleiului care n-a intrat în reacție, ml.

Conținutul de cineol trebuie să fie nu mai mic de 60 % după volum.

Determinarea cantitativă a cineolului în *Oleum eucalypti* **prin cromatografia gazo-lichidă** pe coloane fixate în formă de S, cu lungimea 3 cm și diametrul interior 4 mm. Exponentul solid – cromosorb W (60-80 meși), faza imobilă – polietilenglicolul, gaz-exponentul – heliul, detectorul – catarometrul. Temperatura în termostat 200 °C, în vaporizator – 250 °C, în coloană – 120 °C. În vaporizator se introduc 0,5 μl de ulei volatil de eucalipt. Viteza heliului – 30 ml/min, viteza bandei de diagramă – 240 mm/oră. Pe cromatogramă se observă 3 picuri.

Calculul conținutului cantitativ de cineol (picul A) se efectuează după formula:

$$x_A = \frac{S_A \times 100}{S_A + S_B + S_C},$$

în care: S_A, S_B, S_C – suprafața picului, egală cu produsul înălțimii picului și lățimea lui la jumătate de înălțime; x_A – conținutul procentual de cineol.

Determinarea cantitativă a carvonei din *Carvi aetheroleum*. La tratarea unui volum determinat de *Carvi aetheroleum* cu soluție apoasă de sulfit de sodiu în mediu acid, carvona (și ceilalți compuși cu funcții carbonilice) adiționează sulfitul, transformându-se în compuși solubili în apă.

Măsurând volumul de ulei rămas și calculând diferența, se află cantitatea (ml) de compuși carbonilici și se exprimă procentual în carvonă.

Tehnica de lucru: 5 ml ulei de chimen se tratează într-un balon *Cassia* de 100 ml cu 50 ml sulfit de sodiu și 5 picături de fenolftaleină (I). Amestecul se încălzește sub agitare 2 ore în baia de apă în fierbere. Pe măsură ce apare o colorație roz, amestecul se neutralizează cu acid acetic diluat. Se adaugă încă 5 ml sulfit de sodiu și 2 picături de fenolftaleină (I) și se încălzește 30 de minute; reacția se consideră încheiată dacă nu mai apare colorația roz. După răcire, se adaugă apă până când stratul uleios ajunge în gâtul gradat al balonului.

Volumul de ulei citit la 20 °C nu trebuie să fie mai mare de 2,75 ml și mai mic de 1,75 ml. Uleiul de chimen trebuie să conțină 45–65 % carvonă după volum.

Determinarea cantitativă a eucaliptolului din *Eucalypti aetheroleum*. Metoda se bazează pe transformarea eucaliptolului într-un compus hidrofil la tratare cu rezorcinol (soluție apoasă). Reacția este însoțită de o scădere a volumului de ulei volatil, care se măsoară cu ajutorul balonului *Cassia*. Concentrația de eucaliptol din uleiul volatil se exprimă procentual.

Tehnica de lucru: 3 ml ulei de eucalipt se agită 15 minute, într-un balon *Cassia* de 100 ml, cu 75 ml rezorcinol. După separarea lichidelor se mai adaugă soluție rezorcinol, până când stratul uleios ajunge în gâtul gradat al balonului. Diferența dintre volumul de ulei luat în lucru și volumul de ulei citit după 60 minute, reprezintă cantitatea de eucaliptol din uleiului luat în lucru.

Determinarea cantitativă a fenolilor din *Thymi aetheroleum.* Principiul metodei constă în tratarea uleiului volatil cu o soluție apoasă NaOH, în balon *Cassia*, pentru transformarea fenolilor în fenolați solubili în apă. Metoda necesită un repaos de 12 ore, după care uleiul rămas se aduce în gâtul gradat al balonului și se măsoară. Diferența față de cantitatea inițială de ulei reprezintă totalul fenolic și se exprimă în timol.

3.5. Produse vegetale cu conținut de substanțe amare

Definiție

Substanțele amare sunt compuși ternari, neutri, netoxici, elaborați de speciile regnului vegetal, cu gust puternic amar, care determină o secreție gastrică lentă dar persistentă, fără să exercite o mărire a resorbției. Prezența gustului amar nu indică cu certitudine la existența principiilor amare, deoarece gust amar au și heterozidele cardiotonice, alcaloizii, iridoidele, unele antibiotice, substanțe utilizate pentru alte acțiuni.

Clasificare

După nucleul ce stă la baza lor substanțele amare se pot clasifica în: lactone monoterpenice (reprezentanții familiei Gentianaceae); lactone sesquiterpenoidice (specii din familia Asteraceae); lactone diterpenoidice (plantele familiei Liliaceae).

Substanțe amare cu alte tipuri de structuri se întâlnesc rar.

Criteriul de clasificare a produselor cu principii amare, cel mai des utilizat, se bazează pe proprietățile organoleptice ale acestora. În conformitate cu acesta distingem:

1. Produse vegetale amare simple (conțin numai principii amare) – *Amara pura: Gentianae radices, Taraxaci radices et herba, Centaurii herba, Trifolii fibrini folia.*

2. Produse vegetale amare aromatice (pe lângă principii amare conțin și uleiuri volatile) – *Amara aromatica: Calami rhizomata, Absinthii herba, Millefolii flores et herba.* Unele din ele au fost descrise la tema „Uleiuri volatile".

3. Produse vegetale amare mucilaginoase (conțin și mucilagii) – *Amara mucilaginosa.* Reprezentanți din această grupă au fost caracterizați la tema „Poliholozide".

3.5.1. Caractere macro- și microscopice

ABSINTHII HERBA – părți aeriene de pelin

Planta producătoare: ***Artemisia absinthium*** L. – pelin

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din frunze, tulpini și flori. Tulpinile sunt cilindrice, rămuroase, de 25 cm lungime și 4 mm în diametru. Frunzele inferioare pețiolate, bi-, tripenat sectate, cele mijlocii scurt pețiolate sau sesile, bipenat partite, iar cele superioare de la vârf nu se desprind de tulpină, trilobate, lanceolate. Marginea frunzei întreagă sau mărunt dințată. Toate părțile plantei sunt pubescente, de culoare gri. Inflorescența este un racem ramificat din numeroase capitule mărunte, globuloase, până la 2-3 mm în diametru, protejate la exterior de un înveliș de imbricate, membranoase și

tomentoase. Receptaculul este convex, pubescent și poartă la exterior rare flori femele, galbene tubuloase, cu marginea întreagă sau bidințată, iar florile centrale hermafrodite, galbene, cu corola regulată, campanulată, divizată, în partea superioară în cinci lobi.

Mirosul e aromat, caracteristic, gustul foarte amar.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunze de pelin *(fig. 36)*. Celulele ambelor fețe ale frunzei au pereți slab ondulați, ușor alungiți. Stomatele, prezente pe ambele fețe, sunt înconjurate de 3-5 celule anexe. Peri numeroși, pluricelulari, dispuși în formă de panglică, pe marginea frunzei în forma literei „T", pe partea superioară – în formă de celulă alungită cu capetele înguste, în centrul căreia se observă „piciorușul". Pe ambele părți ale frunzei se întâlnesc glande oleifere, cu structură caracteristică pentru speciile din familia Asteraceae (vezi florile de mușețel).

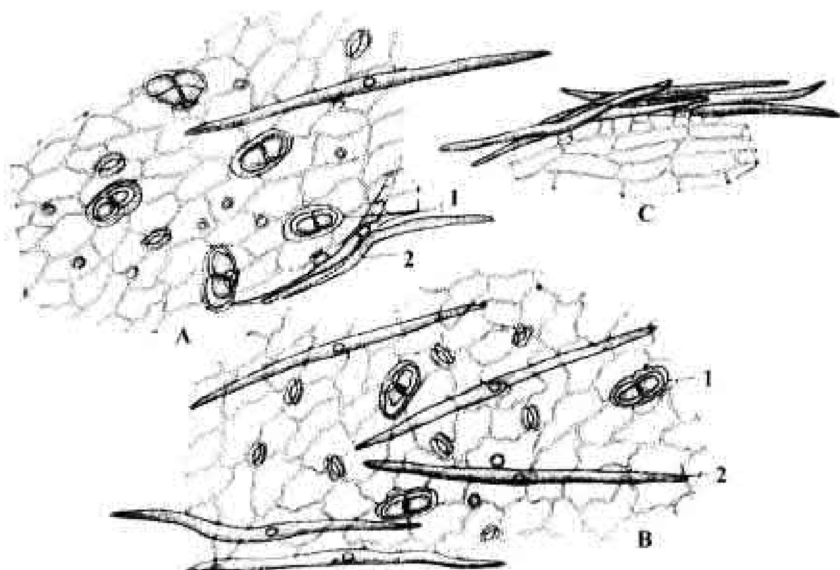


***Fig. 36.* Preparat superficial din frunza de pelin (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *C* – peri pe marginea frunzei. *1* – glande oleifere; *2* – peri.

Impurificări posibile. Pelinărița – *Artemisia vulgaris* L., fam. Asteraceae. Produsul vegetal diferă prin colorația mai verde a tulpinii, caracterul pubescent al frunzelor pe partea inferioară; partea superioară glabră, de culoare verde-închis. Calatidiile roșiatice, obovate, formează inflorescențe paniculate. Alte specii de pelin se determină după frunzele sectate filiform.

CARDUI BENEDICTI HERBA – părți aeriene de schinel

Planta producătoare – ***Cnicus benedictus*** L. – schinel

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din tulpini erecte, în cinci muchii, de culoare verzuie sau roșie-brună, lânos-păroase, cu și fără ramificații. Frunzele alungit-lanceolate, spinoase și aspre la pipăit, sesile și aplexicaule, cu lobii dințați, înconjoară tulpina ca un guleraș. Inflorescențele sunt organizate în calatidii terminale înconjurate de bractei membranoase, terminate în spini. Flori tubuloase de culoare galbenă, la bază cu numeroși peri. Fructul – achene galbene-brunii, cilindrice, cu papus.

CENTAURII HERBA – părţi aeriene de ţintaură

Planta producătoare – ***Centaurium umbellatum*** Gilib (syn. *Erythraea centaurium* Pers.) – ţintaură (fierea-pământului)

Fam. **Gentianaceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din părţi aeriene colectate în timpul înfloririi – tulpini cu frunze şi flori. Tulpinile sunt de culoare verde-gălbuie, glabre, tetragonale, 10-30 cm lungime, 2 mm în diametru, tubuloase, cu sau fără ramificare. Frunzele bazilare alungit-obovate, cu vârful retezat, rotunjit, îngustate spre bază, 4 cm lungime şi 2 cm lăţime, cu 5 nervuri arcuite. Frunzele mici, opuse, alungit-lanceolate sau ovat-alungite, ascuţite la vârf. Inflorescenţa corimb terminal fasciculat, cu puţine flori, 10 mm în diametru, dispuse aproximativ la acelaşi nivel. Caliciul alungit cu 5 dinţi şi o corolă tubuloasă, cu 5 lobi lanceolaţi de culoare roză. Stamine 5, pistil 1.

Gust amar, miros nu prezintă.

Caractere microscopice: pe secţiunea transversală prin frunză se observă un fascicul libero-lemnos colateral. Unele celule din mezofilul foliar prezintă cristale prismatice de oxalat de calciu. În pulbere se regăsesc fragmente de epidermă inferioară din celule cu pereţi sinuoşi şi cuticula pliată. În regiunea nervurii mediane epiderma este îngroşată, iar în fragmentele de parenchim clorofilian sunt celule cu cristale prismatice de oxalat de calciu.

CICHORII HERBA – părţi aeriene de cicoare

Planta producătoare: ***Cichorium intybus*** L. – cicoare

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: produs din părţile aeriene ale plantei recoltate în timpul înfloririi. Frunzele bazale sunt lungi de 15-20 cm, late de 1-5 cm, ovale, uşor sinuoase pe margini şi pubescente pe faţa inferioară (îndeosebi pe nervura mediană); frunzele tulpinale mai mici, alungite până la lanceolate. Calatidiile geminate sau aglomerate (dispuse câte 2 alipite), cu flori ligulate de culoare albastră, sesile sau scurt pedunculate. Culoarea verde.

Fără miros specific, cu gust amărui.

CICHORII RADICES – rădăcini de cicoare

Planta producătoare: ***Cichorium intybus*** L. – cicoare

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: produs din rădăcini sau fragmente de rădăcini uşor ondulate, cu striaţiuni longitudinale, având scoarţa subţire, un cilindru central neregulat (vizibil la lupă) delimitat de scoarţă. Exteriorul de culoare brună-cenuşie, interiorul alb-gălbui.

Fără miros caracteristic, cu gust mucilaginos şi amar.

GENTIANAE RADICES – rădăcini de ghinţură

Planta producătoare: ***Gentiana lutea*** L. – ghinţură

Fam. **Gentianaceae**

Alte specii: *G. punctata, G. panonica, G. purpurea, G. asclepiadea* etc.

Caractere macroscopice: fragmentele de rădăcini au forme neregulate, cilindrice, uneori curbate, despicate longitudinal. Fragmentele rizomilor prezintă striuri transversale uneori dese, dacă fragmentul provine din porţiunea superioară a rizomului

sau din zona de joncțiune cu rădăcina. Fragmentele prezintă 0,5-4,0 cm în diametru și 10-20 cm lungime. Culoarea produsului brun-gălbuie, brun-cenușie la exterior și galbenă la interior; colorații brun-roșcate nu sunt admise.

Mirosul este slab, gustul dulceag, apoi foarte amar.

Caractere microscopice: pe secțiunea transversală prin rădăcină se observă o structură secundară obișnuită, delimitată la exterior de suber, scoarță redusă, parenchimatoasă. Liberul secundar este continuu. În zona lemnului apar vasele, grupate în număr redus. În pulbere, în celulele fragmentelor de țesuturi, apar picături de ulei și microcristale aciculare de oxalat de calciu.

MENYANTHIDIS FOLIA – frunze de trifoiște

Planta producătoare: ***Menyanthes trifoliata*** L. – trifoiște

Fam. **Menyanthaceae**

Caractere macroscopice: frunze trifoliate, cu rămășițe ale pețiolului comun, divizat în trei ramificări scurte. Foliolele separate, eliptice sau alungit-obovate, cu marginea întreagă, rareori ușor ondulată sau cu adâncituri mici. Frunzele glabre, subțiri, fragile, de aceea mai des sunt șifonate, parțial mărunțite și despărțite de pețiolul comun. Dimensiunile frunzelor: 5-8 cm lungime, 3-5 cm lățime; lungimea pețiolului sub 3 cm, culoarea verde.

Gustul foarte amar.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunze *(fig. 37)*. Celulele epidermei superioare sunt poligonale, cu pereții drepți, ale celei inferioare cu pereți slab ondulați. Stomatele de pe ambele fețe ale frunzei slab proeminente, înconjurate de 4-5 celule anexe. Pe alocuri, aproape de nervuri și stomate, se observă cuticula striată. Mezofilul frunzei este reprezentat de aerenchim.

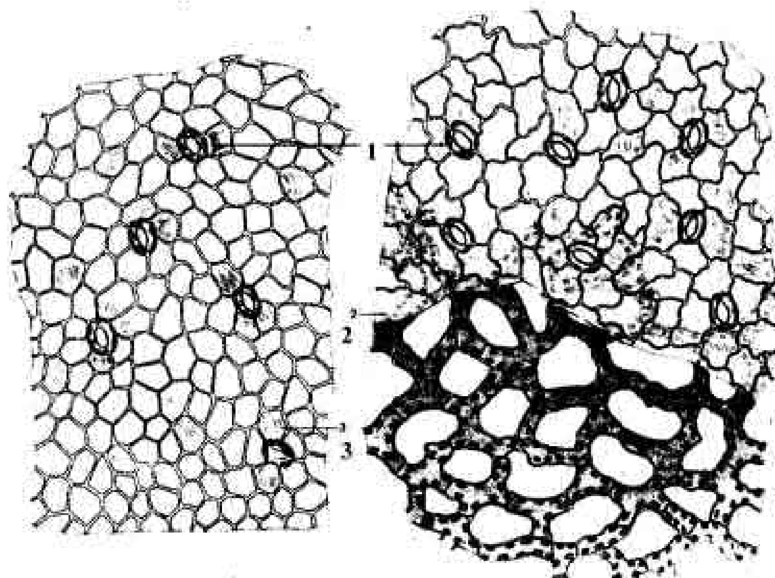


Fig. 37. **Preparat superficial din frunza de trifoiște (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară. *1* – stomate; *2* – parenchim; *3* – cuticula striată

TARAXACI RADICES – rădăcini de păpădie

Planta producătoare: ***Taraxacum officinale*** L. – păpădie

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: rădăcini întregi, pivotante, cu suprafaţa striată longitudinal, tari, fragile. Pe fractura netedă se observă scoarţa lată, albicioasă, în centrul rădăcinii lemnul galben. În scoarţă sunt numeroase zone concentrice (exfoliere). Rădăcinile au 10-15 cm lungime şi până la 1,5 cm în diametru. Culoarea cenuşiu-gălbuie până la cafeniu.

Gustul amar.

Caractere microscopice: secţiune transversală prin rădăcină *(fig. 38)*. Scoarţa este lată, străbătută de numeroase canale laticifere care, împreună cu grupurile de vase ciuruite, formează inele concentrice întrerupte. Laticiferele în secţiune sunt rotunde sau ovale, cu conţinut cenuşiu-gălbui. Razele medulare uni- sau biseriate se întâlnesc rar. Zona lemnoasă este mică, vasele dispuse haotic. Parenchimul fundamental al scoarţei conţine inulină sub formă de aglomerări incolore sau cenuşiu-deschise (a se vedea fără încălzire).

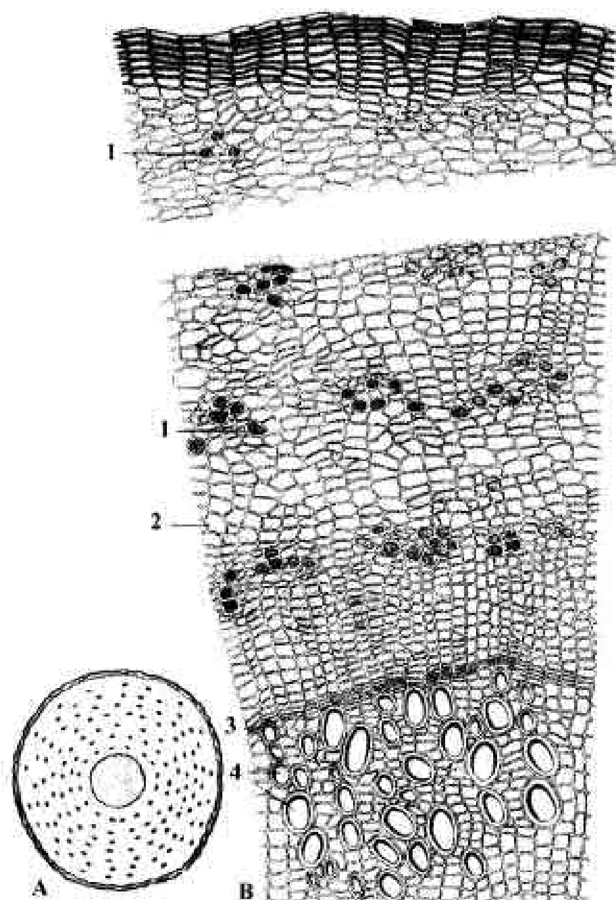


***Fig. 38.* Secţiune transversală prin rădăcina de păpădie:** *A* – schemă (sub lupă); *B* – fragment din secţiunea transversală (x280). *1, 2* – grupuri de laticifere; *3* – celulele parenchimului cu inulină; *4* – cambiu; *5* – vase lemnoase

Pe secțiunea longitudinală a scoarței laticiferele sunt sub formă de tuburi ciuruite și anastomoze cu conținut granulos, care se colorează cu sudan III în roșu-portocaliu.

3.5.2. Analiza chimică

Analiza cromatografică a monoterpenoidelor de tip secoiridoidic din *Gentianae radices* (CSS)

Soluția de analizat: 1 g produs vegetal pulverizat este supus extracției cu 10 ml metanol, prin refluxare pe baia de apă, timp de 15 minute. După filtrare, soluția se concentrează până la 2 ml.

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: acetat de etil:metanol:apă (77:15:8).

Revelare: pulverizare cu vanilină sulfurică.

Rezultate:

- gentiopicrozida (R_f= 0,45) – spot brun-violet.
- swertiamarina (Rf = 0,40) – spot brun.
- amarogentina (Rf = 0,80) – spot roșu-violet.

Indice de amăreală

Indicele de amăreală este valoarea celei mai mari diluții (în mililitri) a unei soluții care conține 1 g produs vegetal, tinctură sau extract, la care un verificator, cu sensibilitate stabilită pentru gustul amar, percepe acest gust.

Determinarea indicelui de amăreală se efectuează după calcularea factorului de corecție al verificatorului cu ajutorul unei soluții-etalon de clorhidrat de chinină.

a) Determinarea factorului de corecție al verificatorului

Soluția A (1 la 50 000). Într-un balon cotat se dizolvă 10,0 mg clorhidrat de chinină în 500 ml apă potabilă.

Soluția B (1 la 100 000). Într-un balon cotat de 200 ml se iau 100,0 ml soluția A și volumul balonului se aduce până la cotă cu apă potabilă.

Dacă gustul amar al soluției B este perceput de verificator, din această soluție se efectuează o serie de diluții, conform prevederilor (*tab. 6*).

Dacă gustul amar al soluției B nu este perceput de verificator, diluțiile prevăzute în tabelul 2 se efectuează din soluția A. Dacă verificatorul nu percepe nici gustul evident amar al soluției A, acesta nu este apt pentru determinarea indicelui de amăreală.

Tabelul 6

Gradul de diluție pentru determinarea indicelui de amăreală

Numărul eprubetei	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Soluție-etalon (A sau B) sau soluție-probă (în mililitri)	4,0	4,5	5,0	5,5	6,0	6,5	7,0	7,5	8,0	8,5	9,0	9,5	10,0
Apă potabilă (în mililitri)	6,0	5,5	5,0	4,5	4,0	3,5	3,0	2,5	2,0	1,5	1,0	0,5	-
Factorul de corecție (K) la folosirea soluției B	1,25	1,11	1,00	0,91	0,83	0,77	0,71	0,67	0,63	0,59	0,56	0,53	0,50
Factorul de corecție (K) la folosirea soluției A	0,63	0,56	0,50	0,46	0,42	0,39	0,36	0,34	0,32	0,30	-	-	-

Determinarea se începe cu eprubeta nr. 1 și se stopează la prima diluție la care verificatorul percepe gustul amar timp de 30 secunde. În timpul verificării, soluția

trebuie trecută prin toată cavitatea bucală şi menţinută mai ales la baza limbii. După o verificare, la care s-a perceput gustul amar, cavitatea bucală se clăteşte bine cu apă potabilă; următoarea testare se efectuează în acest caz numai după 15 minute.

Soluţiile de verificat trebuie să aibă temperatura de 20 ± 2 °C.

Factorul de corecţie al verificatorului (K) este raportul dintre diluţia cea mai mare a soluţiei-etalon de clorhidrat de chinină la care verificatorul percepe gustul amar şi indicele de amăreală normal al clorhidratului de chinină:

$$K = \frac{A}{I_n},$$

în care: K – factorul de corecţie al verificatorului; A – diluţia cea mai mare a soluţiei-etalon (A sau B) de clorhidrat de chinină la care verificatorul percepe gustul amar, raportat la 1 g clorhidrat de chinină (în mililitri); I_n – indicele de amăreală normal al clorhidratului de chinină (200 000).

Dacă un verificator percepe gustul amar al diluţiilor pentru care factorul de corecţie (K) nu este prevăzut, acesta nu este apt pentru determinarea indicelui de amăreală.

Stabilirea factorului de corecţie al verificatorului (K) se efectuează înaintea determinării indicelui de amăreală al probei de analizat.

Determinarea indicelui de amăreală. În cazul produselor vegetale se prepară soluţii extractive apoase conform prevederilor din monografia respectivă, din care se efectuează în continuare diluţiile prevăzute în tabel. În cazul tincturilor şi extractelor, diluarea sau dizolvarea în apă potabilă se efectuează conform prevederilor din monografia respectivă. Din soluţiile-probă astfel obţinute se prepară diluţiile prevăzute în tabel.

Prima diluţie, la care verificatorul percepe gustul amar, se determină conform prevederilor de la punctul a.

Idicele de amăreală al probei de analizat se calculează conform formulei:

$$I_n = \frac{C}{K},$$

în care: I_n – indicele de amăreală; C – diluţia cea mai mare a soluţiei-probă la care verificatorul percepe gustul amar, raportat la 1 g probă de analizat (în mililitri); K – factorul de corecţie al verificatorului.

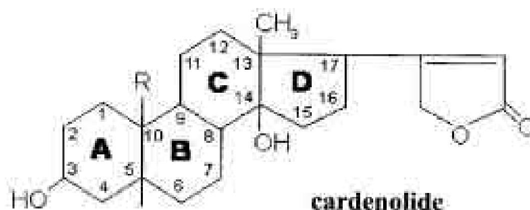
3.6. Produse vegetale cu conţinut de heterozide cardiotonice

Definiţie. Heterozidele cardiotonice sunt compuşi naturali de origine vegetală, derivaţii ciclopentanperhirofenantrenei, care conţin în poziţia 17 inelul lactonic din 5 sau 6 atomi de carbon şi care exercită o acţiune specifică asupra muşchiului cardiac.

Heterozidele cardiotonice nu au echivalenţi sintetici, plantele fiind unica sursă de obţinere a lor.

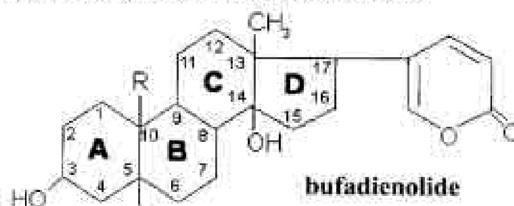
Clasificare. În funcţie de structura inelului lactonic nesaturat, toate heterozidele cardiotonice naturale se clasifică în două grupe:

– *cardenolide*, cu lactona nesaturată pentaatomică;



cardenolide

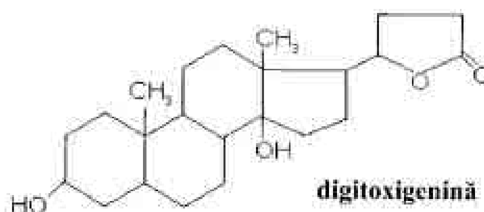
– *bufadienolide*, cu lactona nesaturată hexaatomică;



bufadienolide

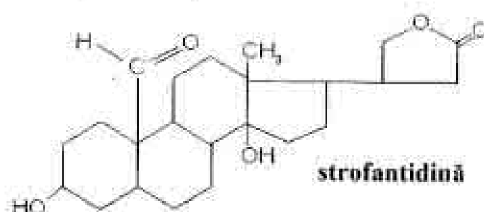
În funcţie de substituentul din poziţia 10, cardenolidele se împart în 3 subgrupe:

– *subgrupa degeţelului*, din care fac parte heterozidele, agliconii care în poziţia 10 au grupa metilică ($-CH_3$). Heterozidele din această subgrupă se absorb şi se elimină încet din organism, posedă acţiune cumulativă.



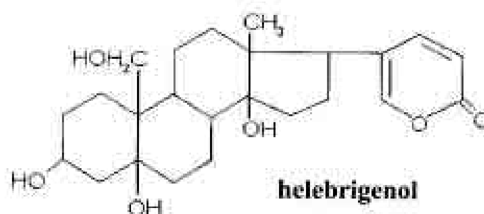
digitoxigenină

– *subgrupa strofantului* include heterozide cardiotonice, agliconii care în poziţia 10 au grupa aldehidă ($-COH$). Aceste heterozide se absorb şi se elimină repede din organism, nu posedă acţiune cumulativă.



strofantidină

– *subgrupa heterozidelor cardiotonice care au în poziţia 10 grupa alcoolică* (–CH_2OH) (helebrigenolul).



helebrigenol

Heterozidele cardiotonice pot fi clasificate după numărul de rămășițe zaharice în partea glucidică a moleculei (monozide, biozide, triozide etc.).

3.6.1. Caractere macro- și microscopice

ADONIDIS VERNALIS HERBA – părți aeriene de rușcuță-de-primăvară
Planta producătoare: ***Adonis vernalis*** L. – rușcuța-de-primăvară
Fam. **Ranunculaceae**

Caractere macroscopice: tulpini de 10–35 cm lungime și 5 mm grosime, slab muchiate, cu ramuri nu prea numeroase lipite de tulpină, de culoare verde-deschiă; frunze alterne, sesile, ovale, pentapenat sectate, până la filiforme, lățimea 0,5–1 mm, lungimea 1–2 cm. În vârful tulpinii – o floare mare (până la 6 cm în diametru) sau un fruct. Florile cu caliciu din 5 sepale ovale, dințate în vârf și pubescente în exterior, verde-mov, cu nervuri proeminente, longitudinal mai întunecate. Corola din 10–12 petale libere, galbene, lucioase. Androceul din numeroase stamine, gineceul policarpelar, apocarp. Fructele pot fi cu grad diferit de maturizare, fiindcă produsul e colectat de la începutul înfloririi până la căderea fructelor. Fruct multiplu, format din mai multe achene verzi-cenușii cu suprafața reticulată și acoperită cu peri, iar în vârf cu un rostru recurbat (stilul lignificat).

Gustul amar, mirosul lipsește.

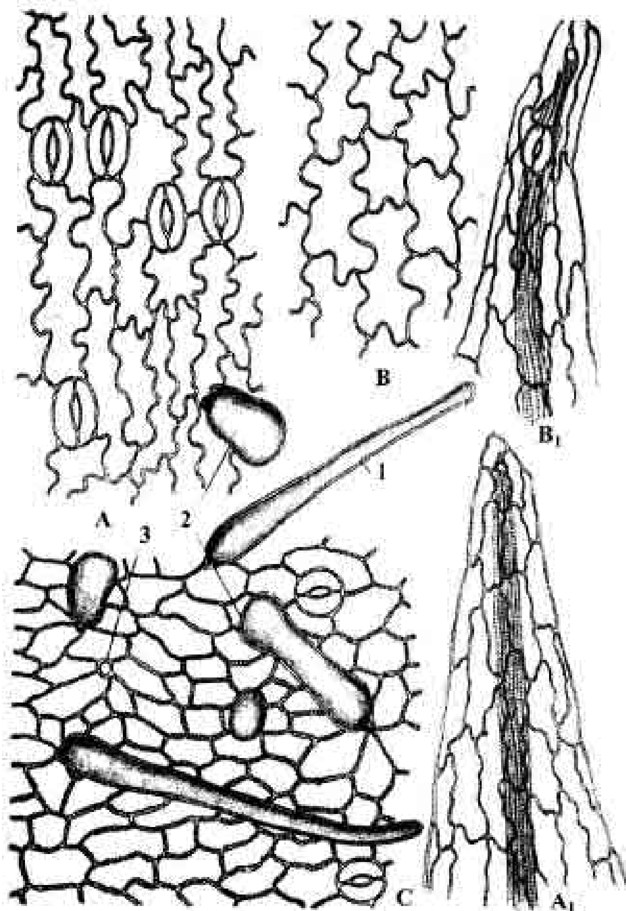


Fig. 39. **Preparat superficial din frunza de ruşcuţă-de-primăvară (x280):**
A – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; A_1, B_1 – segmente de la vârful frunzei, ambele parţi; *C* – epiderma frunzei de la bază. *1* – peri tectori; *2* – peri în formă de bulă; *3* – locul fixării perişorului

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 39)*. Celulele epidermei de pe ambele feţe ale frunzei sunt mari, sinuoase (în special pe partea inferioară) şi puţin alungite. Celulele epidermei superioare uneori au îngroşări moniliforme. La baza frunzei, epiderma constă din celule puţin sinuoase cu membrane moniliform îngroşate. Cuticula – cu striuri bine determinate, longitudinale. Stomate numai pe partea inferioară, mari, ovale, uşor proeminente deasupra frunzei, cu ostiola larg deschisă. Sunt înconjurate de 4–5 celule ale epidermei, orientate pe lungimea laciniei frunzei. Pe marginea laciniilor şi la baza frunzei se întâlnesc uneori peri unicelulari de două tipuri: lungi, în formă de furtun, cu vârful rotunjit, la bază mai lărgiţi şi îngustaţi în locul de fixare; scurţi, în formă de bulă, îngustată brusc în locul de fixare. Perii sunt acoperiţi cu cuticulă spiralat–striată şi fixaţi de o celulă mică, rotundă, a epidermei.

Pulberea de ruşcuţă-de-primăvară e de culoare verde. La microscop *(fig. 40)* se observă fragmente de celule epidermice sinuoase ale frunzei şi fragmente de frunză în secţiune transversală, în care se distinge cuticula striată pe suprafaţa epidermei. Se întâlnesc fragmente de tulpină – bucăţi de fascicule conducătoare, cu vase spiralate şi reticulare, fragmente de parenchim al măduvei, din celule alungite cu pereţii celulari îngroşaţi; grupe de fibre liberiene. Rareori se întâlnesc elemente florale, granule de polen rotund–triunghiulare, fragmente de endocarp al fructului, peri şi alte elemente.

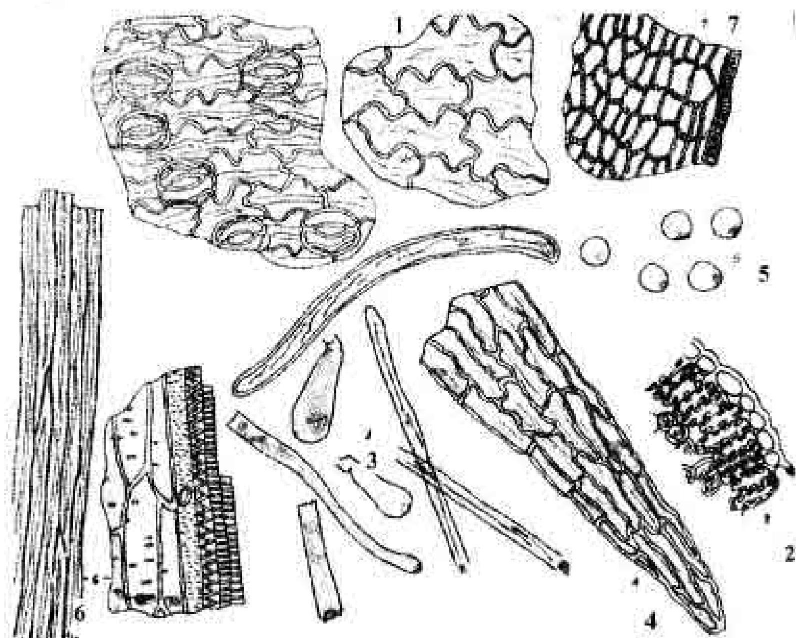


Fig. 40. **Elementele pulberii din părţi aeriene de ruşcuţă-de-primăvară (X280):** *1* – fragmente de epidermă a frunzei; *2* – fragment de frunză în secţuine transversală; *3* – peri; *4* – vârful segmentului frunzei; *5* – polen; *6* – fragmente de ţesuturi ale tulpinii; *7* – fragmente de endocarp al fructului

APOCYNI RHIZOMATA ET RADICES – rizomi şi rădăcini de apocin
Planta producătoare: ***Apocynum cannabinum*** L. – apocin
Fam. **Apocynaceae**

Caractere macroscopice: rizomi (diametru 1,5 cm) cu riduri longitudinale, suprafaţă cafenie; în fractură scoarţa este albă-cenuşie, lemnul gălbui-deschis (cu lupa), măduva albuie, adesea parţial distrusă. Masa principală a produsului vegetal constă din rădăcini cu lungimea de 3-15 cm, diametrul 0,4-1,5 cm. În fractura rădăcinii, cu lupă, se observă scoarţa şi lemnul (la rădăcinile mai bătrâne se observă şi inelele anuale). Scoarţa se desprinde uşor de lemn pe linia cambiului, de aceea în produsul vegetal se întâlnesc bucăţi de lemn şi fragmente separate de scoarţă.

Caractere microscopice: secţiune transversală prin rădăcină *(fig. 41)*. În toată grosimea scoarţei trec numeroase laticifere. Pe secţiunea transversală a rădăcinii se întâlnesc numai în cele mai bătrâne sectoare ale scoarţei, sub suber, fiind tăiate longitudinal deoarece au ramificaţii dispuse perpendicular axei longitudinale a rădăcinii. Latexul este incolor, puţin granulos, cu picături separate sau sub formă de masă aglutinată. Cu sudan III se colorează în roşu-portocaliu; la încălzire, în soluţia de bază conţinutul laticiferelor devine cenuşiu-întunecat. Uneori în scoarţa rădăcinii se întâlnesc grupuri mici de celule pietroase, gălbui. Vasele mari în lemn se află în grupuri mici sau solitare. Aici clar se evidenţiază razele medulare înguste, monostihe, ce dau lemnului caracter radiar. Parenchimul lemnului e dispus în rânduri radiale. Toate elementele lemnului au membrane lignificate (reacţia cu fluoroglucină şi acid clorhidric concentrat).

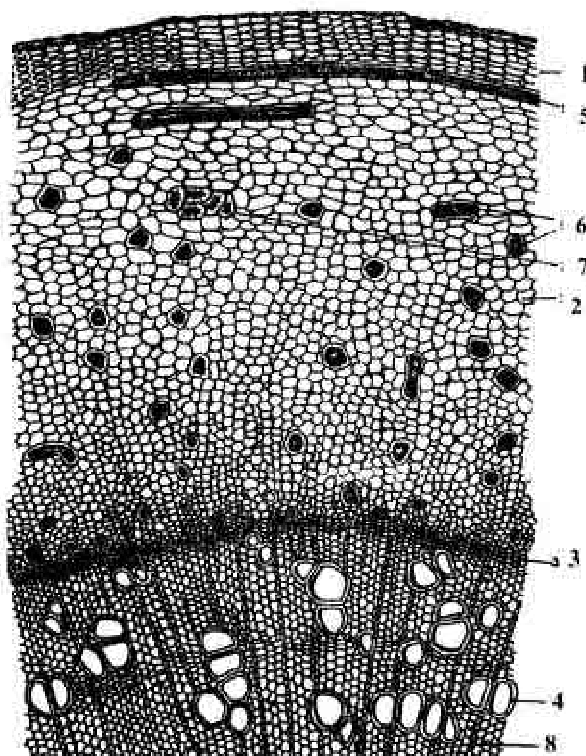


***Fig. 41.* Secţiune transversală prin rădăcina de apocin (X280):** *1* – suber; *2* – parenchimul scoarţei; *3* – cambiu; *4* – vase; *5, 6* – laticifere; *7* – celule pietroase; *8* – raze medulare

Rizomul diferă prin prezența în centru a măduvei, formate din celule mari, rotunde. În zona perimedulară a măduvei sunt dispuse sectoarele liberului intern. În rizom scoarța formează un inel întrerupt de fibre liberiene cu membrane nelignificate și puțin îngroșate. Laticiferele se întâlnesc în scoarță și în măduva rizomului *(fig. 42)*.

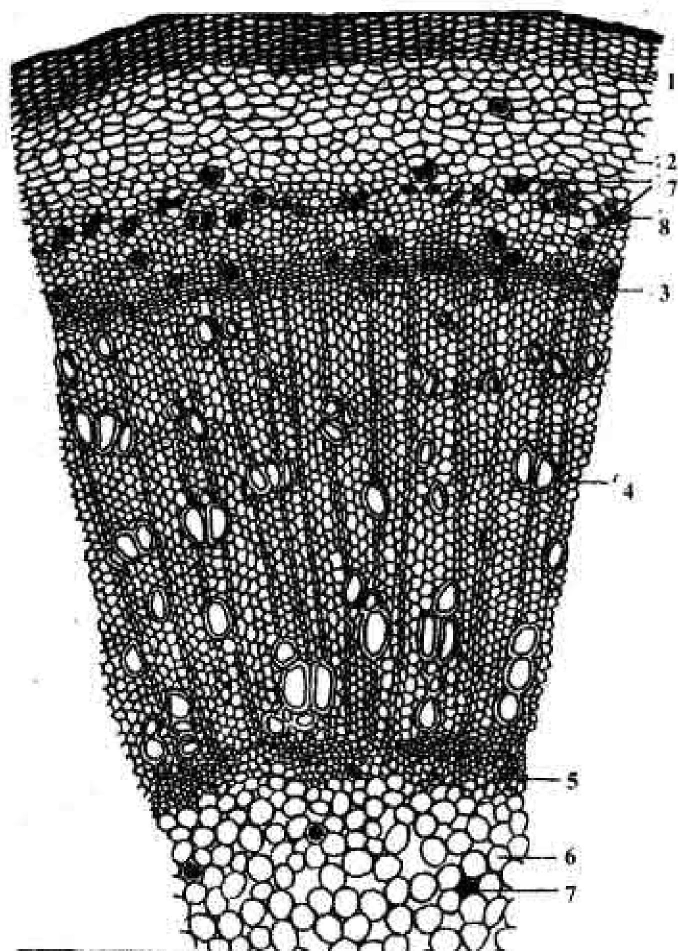


***Fig. 42.* Sectiune transversală prin rizom de apocin (X280):** *1* – suber; *2* – parenchimul scoarței; *3* – cambiu; *4* – vase lemnoase; *5* – liber suplimentar; *6* – parenchimul măduvei; *7* – latcifere; *8* – fibre liberiene

CONVALLARIAE FLORES – flori de lăcrămioară

Planta producătoare: ***Convallaria majalis*** L. – lăcrămioară; varietățile ei: *C. majalis* L., var. *transcaucasica* Utk., *C. Keiskei* Mig. (*C. majalis* var. *manshurica* Kom.)

Fam. **Liliaceae (Asparagaceae)**

Caractere macroscopice: racem unilateral, format din 5-12 flori albe bisexuate, cu perigon petaloid globulos, campanulat, cu 6 dințișori scurți îndoiți. Staminele scurte, în număr de 6; ovarul superior, trilocular. Florile scurte (10–12 mm), pedunculate, la bază cu bractee liniară.

Miros aromat.

CONVALLARIAE FOLIA – frunze de lăcrămioară

Caractere macroscopice: frunze eliptice, lung pețiolate, nervuri arcuate, la bază se îngustează, trecând treptat într-o teacă lungă. Frunzele sunt foarte subțiri, fragile, de culoare verde-aprins, cu marginea întreagă, cu suprafața glabră, slab lucioasă, lungimea 10–20 cm și lățimea 4–8 cm.

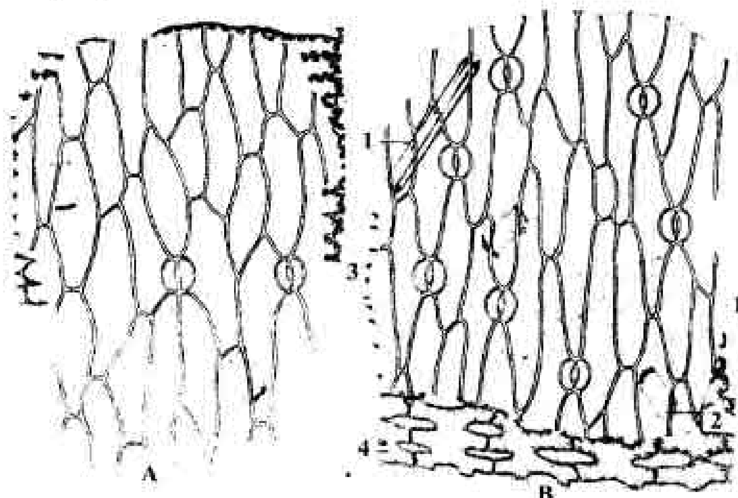


Fig. 43. **Preparat superficial din frunza de lăcrămioară (X280):** A – epiderma superioară, B – epiderma inferioară. 1 – cristale aciforme de oxalat de calciu; 2 – rafide de oxalat de calciu; 3 – țesut palisadic; 4 – țesut lacunar

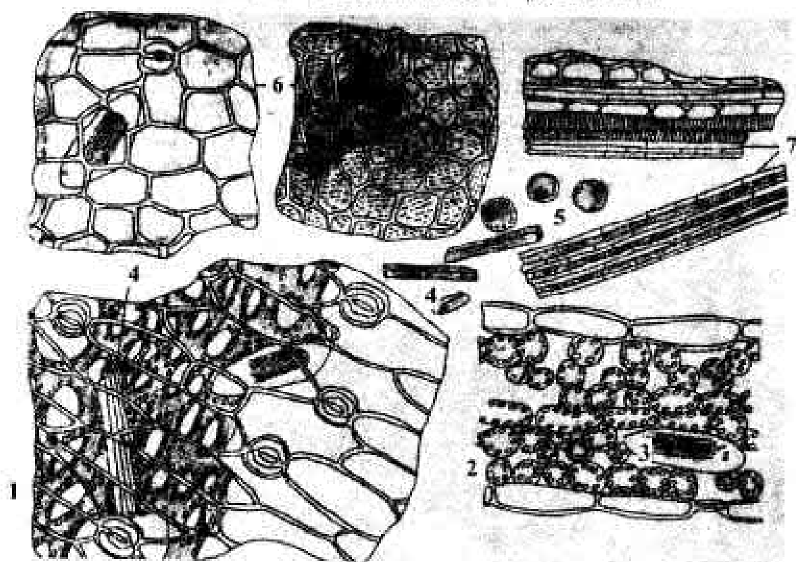


Fig. 44. **Elementele pulberii din părți aeriene de lăcrămioară (X280):** 1 – fragmente de epidermă a frunzei; 2 – fragment de frunză în secțiune transversală; 3 – rafide de oxalat de calciu; 4 – cristale aciforme; 5 – polen; 6 – fragmente de periant; 7 – fragmente de fascicule conducătoare

Caractere microscopice: preparat superficial de frunză *(fig. 43)*. Celulele epidermei de pe ambele părţi ale frunzei sunt extinse pe lungimea frunzei. Stomatele, prezente pe ambele feţe ale frunzei, sunt mici, sferiforme, orientate pe lungimea frunzei şi înconjurate, de regulă, de patru celule. Mezofilul diferenţiat în ţesut palisadic şi lacunar. Ţesutul palisadic din celule lungi, extinse pe lăţimea frunzei, paralel cu suprafaţa ei. Ţesutul lacunar din celule de diferite forme situate într-un plan paralel cu suprafaţa frunzei. În mezofilul foliar se găsesc numeroase cristale de oxalat de calciu aciforme, mari şi grupate în rafide. Pe nervurile frunzei grupuri mari de fibre mecanice.

Pulberea din părţi aeriene de lăcrămioară este de culoare verde-deschis *(fig. 44)*. În preparat se întâlnesc fragmente de frunze ale preparatului superficial şi secţiuni transversale, precum şi elemente ale florii şi tulpinii florifere. Epiderma corolei din celule poligonale, cu pereţi subţiri şi cuticula fin striată. Se întâlnesc granule de polen sferice, fragmente de fascicule conducătoare cu vase spiralate, grupuri de fibre, fragmente separate, lungi, de cristale prismatice.

CONVALLARIAE HERBA – părţi aeriene de lăcrămioară

Caractere macroscopice: tulpini florifere poliedrice, cu o muchie evidenţiată sau aproape triedrică, glabră, verde-deschis, de până la 15–20 cm lungime şi 1,5 mm lăţime, se termină cu un racem unilateral. Frunze eliptice, lung peţiolate.

Miros aromat.

DIGITALIS FOLIA – frunze de degeţel

Plante producătoare: ***Digitalis purpurea*** L. – degeţel-roşu; ***Digitalis grandiflora*** Mill. (D. ambigua Murr.) – degeţel-galben; ***Digitalis lanata*** Ehrh. – degeţel-lânos; ***Digitalis ferruginea*** L. – degeţel-ruginiu; ***Digitalis ciliata*** Trautv. – degeţel-ciliat

Fam. **Scrophulariaceae**

Caractere macroscopice

Digitalis purpureae folia: frunze ovat–lanceolate, cele inferioare, de pe tulpina floriferă, alungit-ovate, îngustate într-un peţiol aripat. Lungimea frunzei de la 10 cm până la 30 cm, lăţimea 4–15 cm. Frunzele bazilare lung-peţiolate, cele tulpinale scurt peţiolate sau sesile. Marginea frunzei crenat dinţată, nervaţiunea reticulată. Suprafaţa frunzei alveolară, cu nervuri imprimate pe faţa superioară şi proeminente pe cea inferioară. Partea superioară verde-închis, uşor pubescentă, cea inferioară verde-deschis, puternic pubescentă.

Mirosul este slab, gustul puternic amar. Frunzele proaspete nu au un miros special, dar prin uscare capătă un miros de ceai, foarte plăcut.

Digitalis grandiflorae folia: frunze lanceolate sau alungit–ovate, spre bază treptat se îngustează într-un peţiol scurt, aripat, frunzele tulpinale fără peţiol. Lungimea frunzei 10–30 cm, lăţimea 2–6 cm. Marginea frunzei ascuţită inegal, cu zimţi rari. Nervaţiunea penată. Frunzele tinere sunt uşor pubescente pe ambele feţe, cele mature – doar pe nervurile mari ale feţei inferioare şi pe margini. Frunzele sunt subţiri, foarte fragile, faţa superioară de culoare verde, cea inferioară verde-deschis.

Mirosul slab caracteristic, gustul puternic amar.

Digitalis lanatae folia: frunze lanceolate sau alungit-lanceolate, vârful acut, baza treptat se îngustează în peţiol; frunzele tulpinale sesile. Marginea frunzei întreagă sau uşor crenată. Lungimea frunzelor 6–15 cm, lăţimea 2–4 cm. Nervaţiune penată. Pe faţa inferioară se evidenţiază nervura principală şi 3–4 nervuri secundare, de culoare brun-gălbue, la bază – roşiatic-mov. Suprafaţa frunzei este glabră, pe partea superioară cu

luciu. Frunzele tulpinale mai mici în dimensiuni, eliptic-lanceolate, sesile, pubescente la bază şi pe margine. Culoarea frunzei verde, pe partea inferioară mai deschisă.

Mirosul slab caracteristic.

Digitalis ferrugineae folia: frunzele mari, cu lungimea de 7–40 cm, lanceolate şi lanceolat-alungite, îngustate treptat spre bază, unde limbul frunzei trece într-un peţiol aripat; frunzele tulpinale de la vârf sunt sesile. Marginea frunzei întreagă sau cu zimţi rari. Nervaţiunea penată. Nervura principală imprimată pe faţa superioară şi proeminentă pe cea inferioară. Suprafaţa frunzei uşor pubescentă. Faţa superioară de culoare verde-închis, cea inferioară – mai deschisă.

Mirosul slab caracteristic.

Digitalis ciliatae folia: frunze subţiri, mici, lungimea 4–7 cm şi lăţimea 0,5–1,5 cm, lanceolate şi îngust–lanceolate, cu vârful ascuţit, sesile. Marginea frunzei serat-dinţată; dinţii înguşti şi lungi, îndoiţi, în formă de cârlig. Nervaţiunea penată. Suprafaţa frunzei pubescentă, îndeosebi pe epiderma inferioară şi pe margini. Faţa superioară de culoare verde-închis, cea inferioară – mai deschisă.

Mirosul slab caracteristic.

Caractere microscopice: toate speciile de degeţel se caracterizează prin structură anatomică a frunzelor asemănătoare, cu caractere diagnostice principale comune: structura epidermei, structura şi dispoziţia perişorilor, marginea frunzei.

Digitalis purpurea. Preparat superficial din frunze *(fig. 45)*. Celulele epidermei superioare a frunzei sunt fin sinuoase, celei inferioare cu sinuozitatea mai accentuată. Cuticula pe ambele epiderme subţire, pe alocuri striată. Stomatele ovale, uşor evidenţiate, de tip anomocitic, pe partea inferioară numeroase, pe cea superioară mai rare, înconjurate de 3–7 celule anexe. Pe zimţii frunzei 2–3 hidatode. Frunza pubescentă, mai ales pe partea inferioară. Perii sunt tectori şi glandulari. Perii tectori (300–500 µm) constau din 2-8 celule cu pereţii foarte subţiri, prevăzuţi cu o cuticulă fin verucoasă şi cu celula terminală fin prelungită la vârf, în formă de deget de mănuşă. Perii glandulari sunt de două tipuri: mici, cu glanda bicelulară (rar monocelulară), cu piciorușul scurt, mono- sau bicelular, priviţi de sus amintesc cifra 8. Alt tip de peri, cu glanda monocelulară, sferică sau ovală, pe picioruş lung pluricelular, se întâlnesc mai rar.

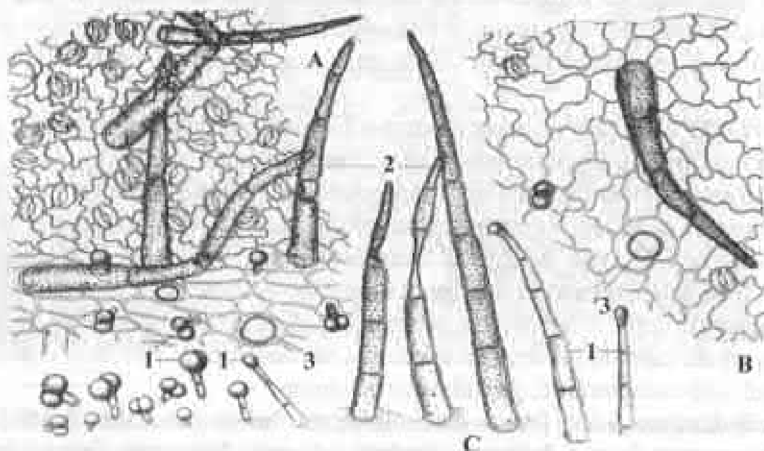


***Fig. 45.* Preparat superficial din frunza de degeţel-roşu (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *C* – peri. *1* – peri glandulari; *2* – peri tectori; *3* – locul fixării perişorului

Pulberea frunzelor de *Digitalis purpurea (fig. 46)* are culoare verde sau verde-cenușiu și prezintă fragmente din cele două epiderme, formate din celule poligonale cu pereții drepți sau sinuoși, stomate de tip anomocitic, peri tectori pluricelulari, formați din 2–8 celule, cu pereți prevăzuți cu o cuticulă fin verucoasă și cu celula terminală rotungită la vârf, în formă de deget de mănușă și peri glandulari cu structură specifică. Se întâlnesc fragmente separate de frunze în secțiune transversale pe care aici se observă că țesutul palisadic constă din 1–2 rânduri de celule, iar țesutul lacunar este foarte spongios. Se întâlnesc și fragmente de fascicule conducătoare din nervurile mai mari.

Digitalis grandiflora. Preparat superficial din frunză *(fig. 47)*. Celulele epidermei sunt mai mari decât la degețelul-roșu. Pe fața superioară celule poligonale sau ușor ondulate, pe margine și pe partea superioară a frunzei mici excrescențe mamelare; pe alocuri membranele celulelor moniliform îngroșate. Celulele epidermei inferioare puternic sinuoase. Stomatele ovale, înconjurate de 3–6 celule. Pe zimții frunzei câte 2–3 hidatode. Pe marginea frunzei și pe nervurile mari ale părții inferioare peri tectori foarte mari, până la 1000 µm, din 2–7 celule mari cu suprafața verucoasă. Sunt fragili, rupți sau șifonați, dispuși. Perii glandulari cu glanda bicelulară, pe piciorus monocelular, se întâlnesc mai des pe nervuri, pe marginea frunzei. Foarte rar se întâlnesc peri cu glanda mono- sau bicelulară pe piciorus lung pluricelular.

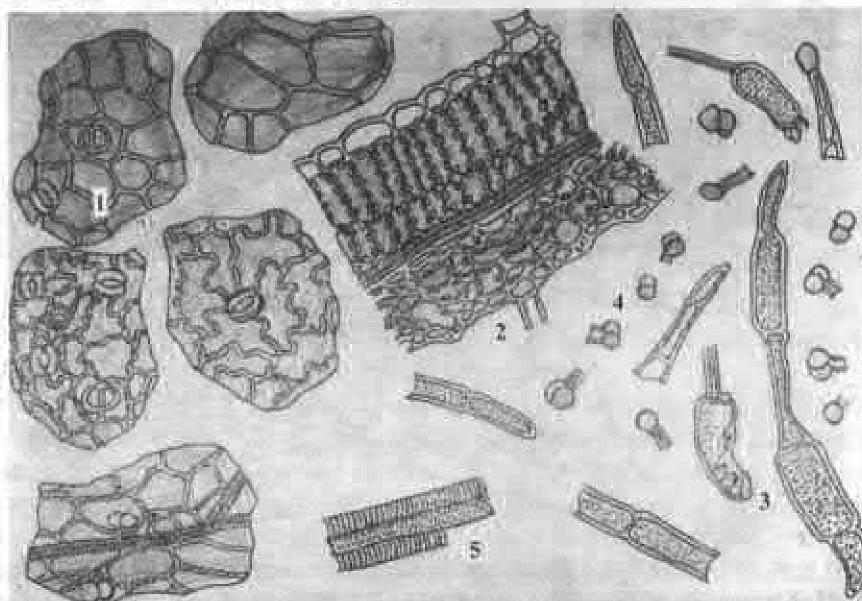


***Fig. 46.* Elementele pulberii de degețel-roșu (X280):** *1* – fragmente de epidermă; *2* – fragment al frunzei în secțiune transversală; *3* – peri tectori; *4* – peri glandulari; *5* – fragmente de nervuri

Pulberea frunzelor de *Digitalis grandiflora* este de culoare verde sau verde-deschis *(fig. 48)*. În preparatul pulberii, importanță diagnostică au fragmentele de epidermă și perii rari. În fragmentele frunzei în secțiune transversală – țesut palisadic într-un rând și tesut lacunar, foarte spongios; celulele epidermei superioare cu excrescențe de dimensiuni medii, mamelare, rar se întâlnesc fragmente de peri.

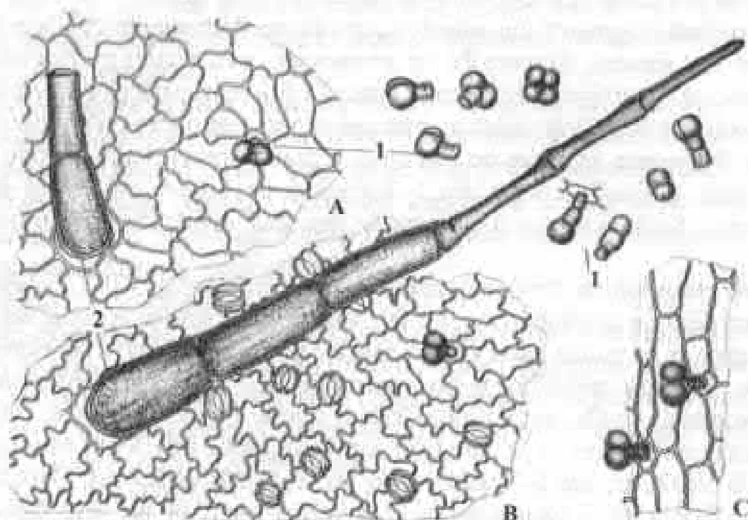


***Fig. 47.* Preparat superficial din frunza de degețel-galben (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *C* – epiderma nervurii. *1* – peri glandulari; *2* – peri tectori

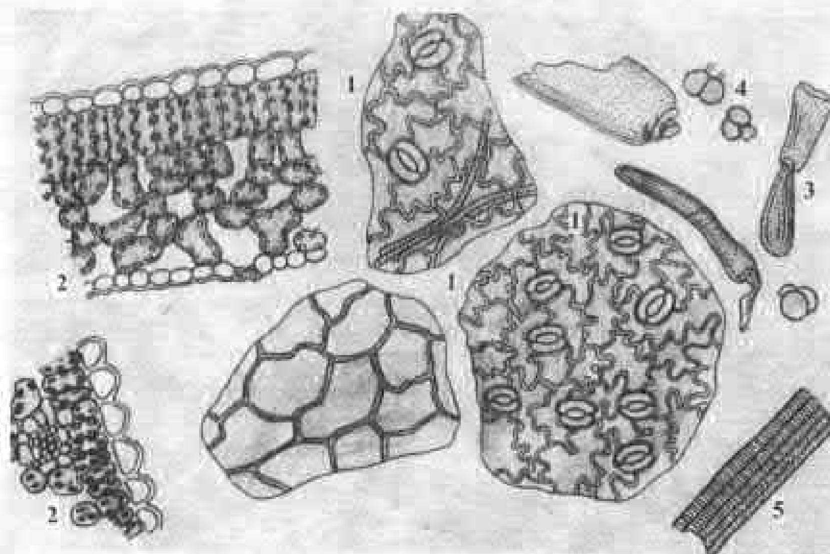


***Fig. 48.* Elementele pulberii de degețel-galben (X280):** 1 – fragmente de epidermă; 2 – fragment de frunză în secțiune transversală; 3 – peri tectori; 4 – peri glandulari; 5 – fragmente de nervură

Digitalis lanata. Preparat superficial din frunză *(fig. 49)*. Celulele epidermei superioare sunt mari, poligonale sau slab sinuoase. Pereții celulari cu îngroșare moliniformă pronunțată. Celulele epidermei inferioare puternic sinuoase, cu îngroșare moniliformă a pereților. Sunt caracteristice sinuozități ale conturului celular cu îngroșare puternică a membranei în locurile de curbură. Stomate pe ambele părți, mari, rotunde sau ovale, ușor evidențiate; pe partea inferioară mai numeroase. Stomatele înconjurate

de 3-5 celule anexe ale epidermei. Cuticula din jurul stomatelor deseori striată. Peri numeroşi, tectori şi glandulari. Gradul şi caracterul pubescenţei la frunzele bazilare şi tulpinale diferit, la frunzele bazilare constă în principal din peri glandulari pe picioruş mic. Predomină peri cu glandă bicelulară pe picioruş scurt. Des se întâlnesc peri cu alt număr de celule în glandă (3-4).

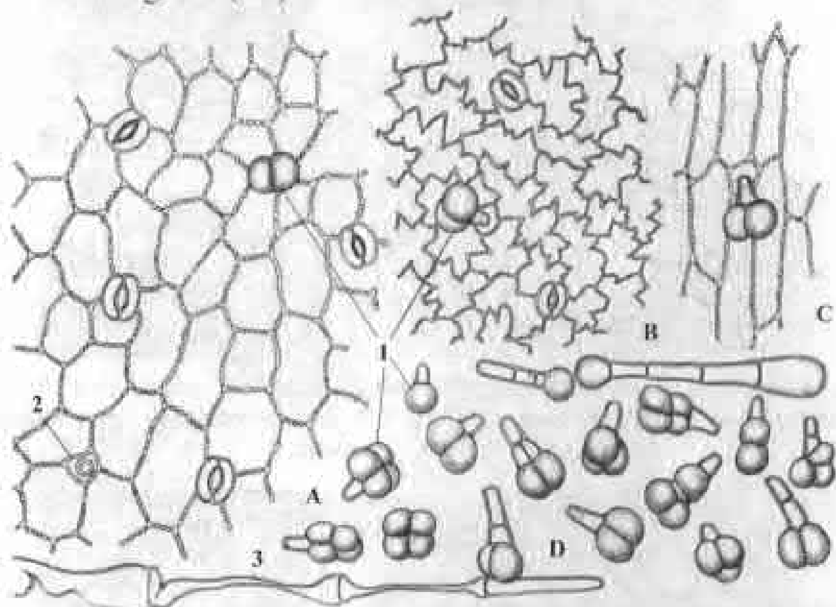


Fig. 49. **Preparat superficial din frunza de degeţel-lânos (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *C* – epiderma nervurii, *1* – peri glandulari; *2* – locul fixării perişorului; *3* – peri tectori

Pe frunzele tulpinale se află peri glandulari pe picioruş foarte lung, pluricelular şi peri tectori din 6-12 celule foarte mari, şifonaţi şi încâlciţi.

Pulberea frunzelor de *Digitalis lanata* este de culoare verde-deschis *(fig. 50)*. Elementele caracteristice: fragmente de epidermă cu îngroşarea moniliformă a pereţilor celulari; fragmente de frunză în secţiune transversală, în care celulele epidermei superioare au excrescenţe mamelare şi pe pereţii laterali – pori de formă ovală; fragmente de mezofil, cu 2-3 rânduri de ţesut palisadic; peri şi fragmente ale lor.

Digitalis ferruginea. Preparat superficial din frunză *(fig. 51)*. Epiderma superioară a frunzei din celule poligonale sau fin sinuoase, deseori alungite într-un papilar nu prea mare (pe marginea frunzei şi la vârf), pereţii celulari moniliform îngroşaţi. Celulele epidermei inferioare puternic sinuoase. Stomatele rotunde sau ovale, usor proeminente. Pe zimţii frunzei hidatode mari.

În jurul stomatelor şi în locul fixării perilor cuticula adesea formează striuri. Peri glandulari (tipici pentru acest gen) şi tectori. Perii glandulari constau din picioruş puţin gomflat, iar celulele glandei ca un conţinut gălbui. Cei tectori sunt pluricelulari, cu membrane foarte subţiri, uneori ondulaţi sau rupţi; suprafaţa lor este netedă sau fin verucoasă. Se întâlnesc, în special, pe nervuri, la baza şi pe marginea frunzei.

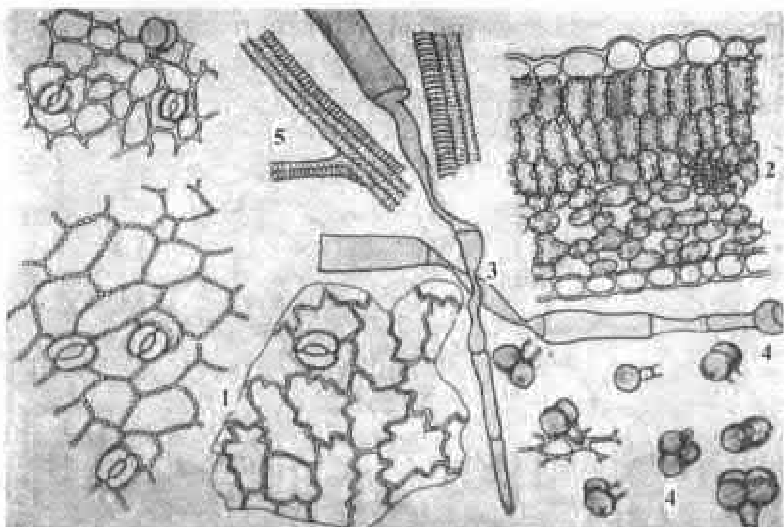


***Fig. 50.* Elementele pulberii de degețel-lânos (X280):** *1* – fragmente de epidermă; *2* – fragment de frunză în secțiune transversală; *3* – perișor tector; *4* – peri glandulari; *5* – fragmente de nervură.

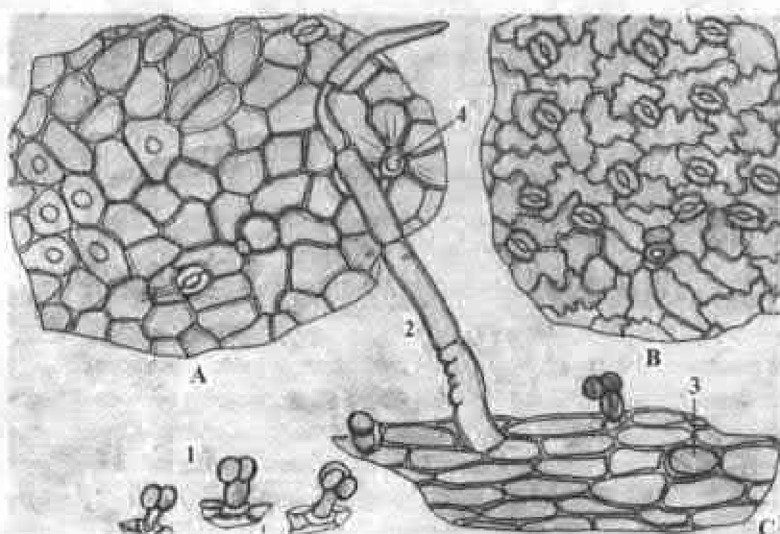


***Fig. 51.* Preparat superficial din frunză de degețel-ruginiu (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *C* – epiderma de deasupra nervurii. *1* – peri glandulari; *2* – perișor tector; *3* – locul fixării perișorului tector

Pulberea frunzelor de *Digitalis ferruginea (fig. 52)* este de culoare verde. În preparat, sub microscop, cele mai caraceristice sunt fragmentele de epidermă cu excrescențe mameliforme și perii, întâlniți atât pe fragmentele frunzei, cât și separat.

Digitalis ciliata. Preparat superficial din frunză *(fig. 53)*. Celulele ambelor epiderme sunt foarte mici, sinuoase, cu membranele moliniform îngroșate. Pe marginea frunzei, celulele epidermei superioare au excrescențe mamelare. Stomatele ovale, înconjurate de 3-5 celule anexe cu pereții celulari ușor îngroșați. Pe zimții frunzei hidatode mari.

Perii tectori şi glandulari. Cei glandulari, caracteristici speciilor de degeţel, au piciorușul spre bază îngustat, iar glanda deseori turtită. Perii tectori pluricelulari (3-13 celule), înguşti, cu membrane foarte subţiri, suprafaţa netedă sau fin verucoasă. Se întâlnesc, de regulă, pe nervuri şi pe marginea frunzei.

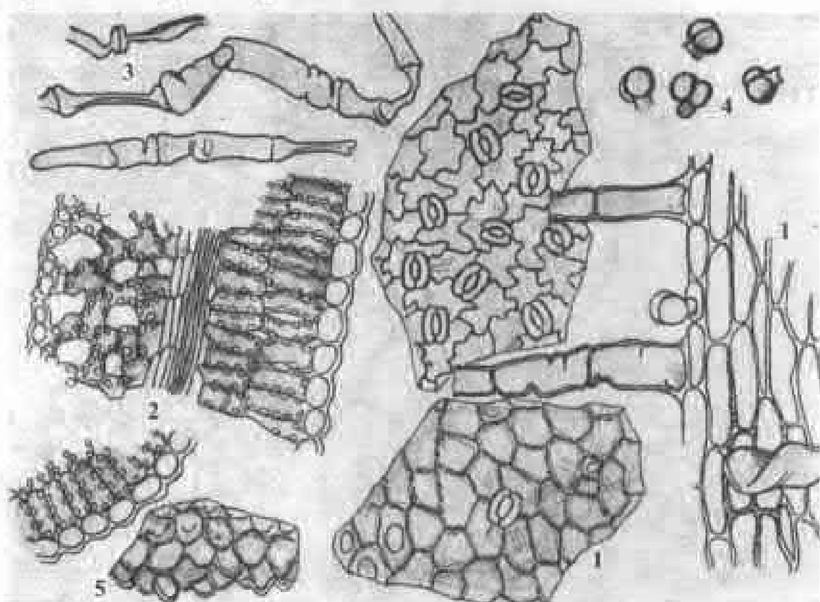


Fig. 52. **Elementele pulberii de degeţel-ruginiu (X280):** *1* – fragmente de epidermă; *2* – fragment de frunză în secţiune transversală; *3* – peri tectori; *4* – peri glandulari; *5* – excrescenţe papilariforme ale epidermei

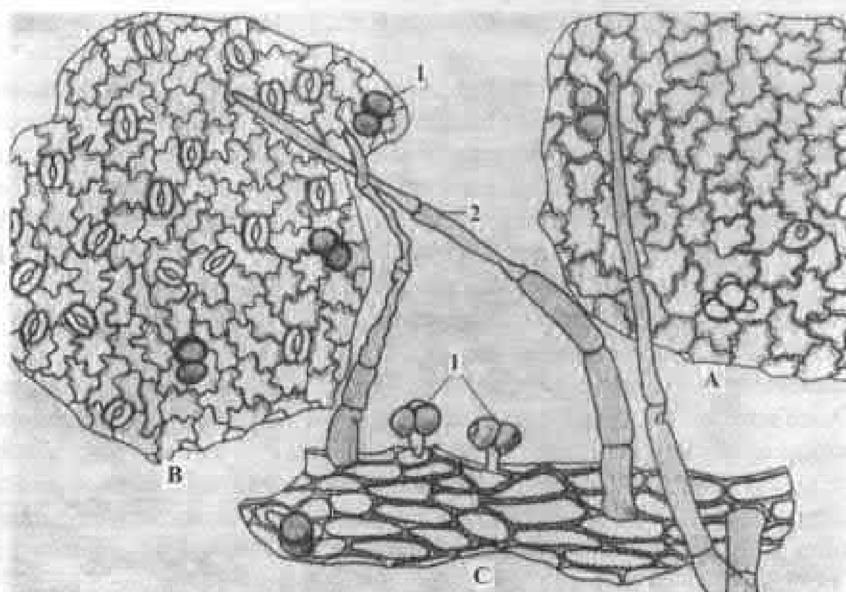


Fig. 53. **Preparat superficial din frunză de degeţel-ciliat (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *C* – epiderma deasupra nervurii. *1* – peri glandulari; *2* – peri tectori

Pulberea frunzelor de *Digitalis ciliata (fig. 54)* se caracterizează prin prezența fragmentelor de epidermă și a perilor; se întâlnesc fragmente din frunze în secțiune transversală; frunza este subțire, mezofilul cu un țesut palisadic dintr-un rând și țesut lacunar cu spații intercelulare mari.

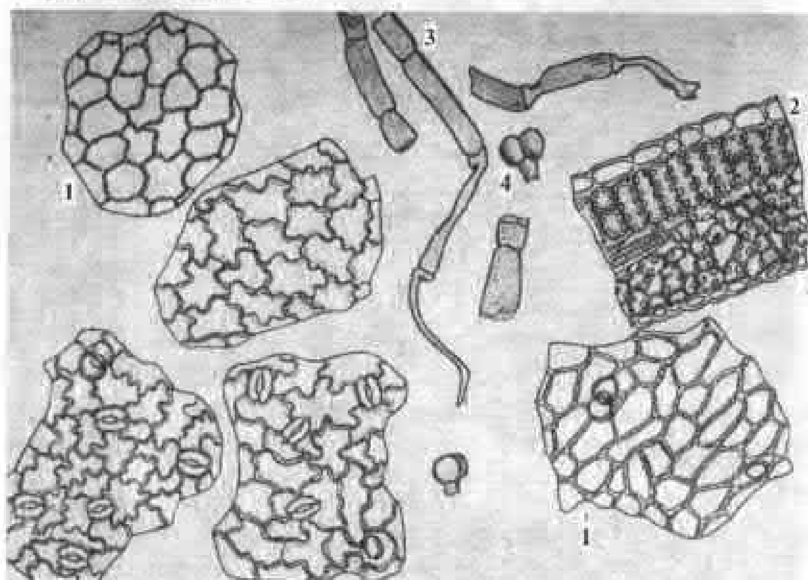


***Fig. 54.* Elementele pulberii de degețel-ciliat (X280):** *1* – fragmente de frunze; *2* – fragment de frunză în secțiune transversală; *3* – peri tectori; *4* – peri glandulari

ERYSIMI DIFFUSI HERBA – părți aeriene de mixandre-sălbatice

Planta producătoare: ***Erysimum diffusum*** Ehrh. (syn. *Erysimum canescens* Roth.)

Fam. **Brassicaceae**

Caractere macroscopice: tulpini ramificate, cu lungimea de 30 cm, ușor muchiate și cu caneluri longitudinale. Frunzele tulpinale alungit-lanceolate sau liniar-lanceolate. Îngustându-se spre bază trec într-un pețiol scurt, pe margine rar dințate sau cu marginea întreagă. Tulpinile și ramurile se termină cu raceme florale de culoare galbenă; în partea inferioară a racemului fructe verzi. Florile sunt caracteristice familiei Brassicaceae: 4 sepale lanceolate de 6-8 mm lungime, 4 ovate, petalele galbene, de 12-14 mm lungime, 5 stamine și 1 pistil. Fructul păstaie de 50-70 mm lungime, până la 1 mm lățime, tetraedric, ușor turtit. Pedunculul fructelor de 5-7 mm lungime.

Produs vegetal de culoare verde-cenușiu, fără miros.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 55)*. Celulele epidermei foarte mici, cu un contur fin, sinuos. Membranele celulelor epidermei superioare pe alocuri îngroșate. Stomatele mici, ovale, sunt prezente pe ambele părți ale frunzei, mai multe pe cea inferioară, înconjurate de trei celule epidermale, dintre care una e cu mult mai mică decât celelalte două (tip anizocitic), fenomen caracteristic pentru plantele familiei Brassicaceae. Cuticula pe alocuri striată. Peri tectori numeroși monocelulari, ramificați, bi- și trifurcați sau stelați, acoperă frunza pe ambele părți. Pe partea superioară predomină perii trifurcați, iar pe cea inferioară, în special pe nervura principală și la baza frunzei, cei bifurcați. Perii au membrană groasă cu suprafața aspru verucoasă.

Pulberea părţilor aeriene de *Erysimi diffusi herba (fig. 55)* este de culoare verde-cenuşie. Conţine fragmente caracteristice ale epidermei frunzelor, peri şi fragmente de frunze în secţiune transversală. Vasele tulpinilor sunt spiralate, celulele epidermei tulpinii alungite, cu pereţi laterali drepţi; perii de pe tulpină bi-trifurcaţi. Epiderma petalelor cu excrescenţe mamelare. Perii tectori de pe petale, sepale şi fructe sunt bi-, tri- sau tetrafurcaţi.

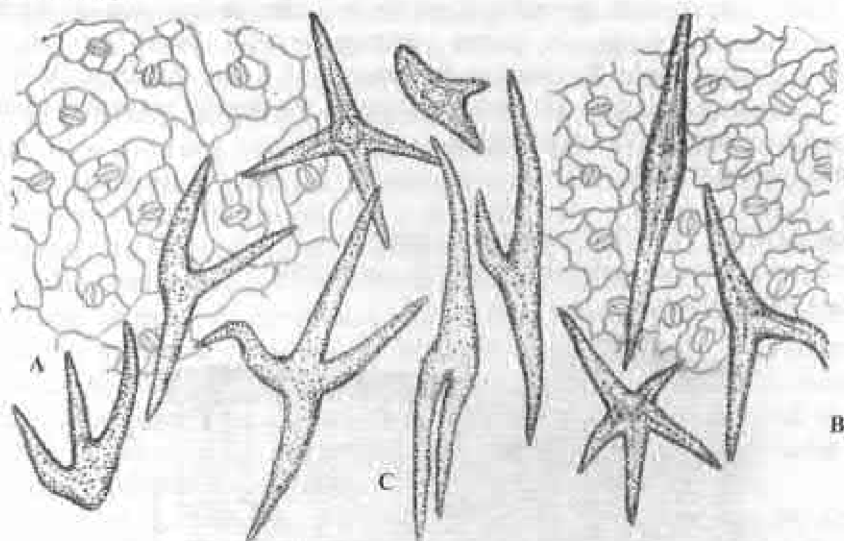


Fig. 55. **Preparat superficial din frunză de mixandră-sălbatică (x280):**
A – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *C* – peri

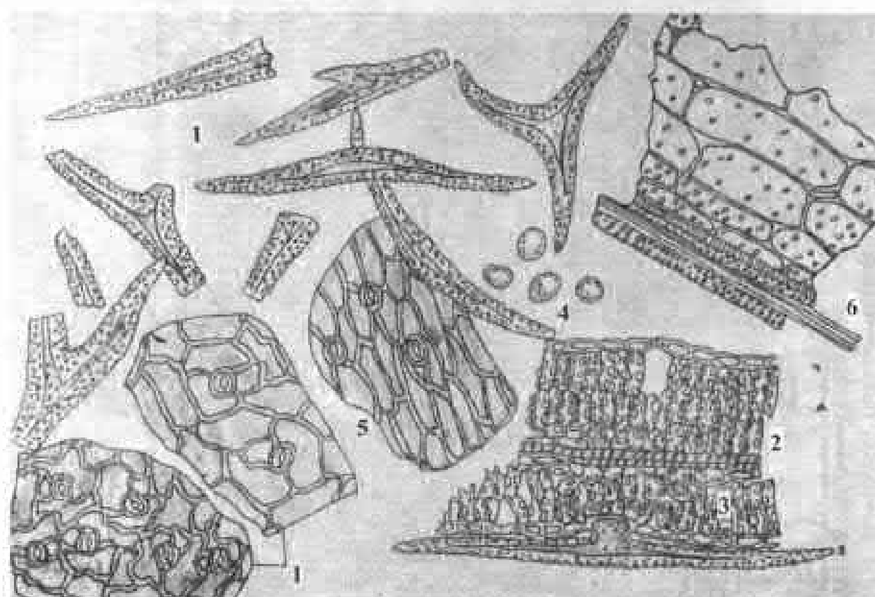


Fig. 56. **Elementele pulberii de părţi aeriene de mixandră-sălbatică (X280):**
1 – fragmente de epidermă a frunzei; *2* – fragmente de frunze în secţiune transversală; *3* – peri; *4* – polen; *5* – epiderma tulpinii; *6* – fragmente de ţesuturi ale tulpinii

HELLEBORI RHIZOMATA CUM RADICIBUS – rizomi cu rădăcini de spânz

Plante producătoare: ***Helleborus caucasicus*** A. Br. – spânz-caucazian, ***H. purparascus*** Waldst. et Kit. – spânz-roşiatic

Fam. **Ranunculaceae**

Caractere macroscopice: rizomi ramificaţi, cilindrici formează concrescenţe mari, tari, cu numeroase rădăcini lungi. Suprafaţa rizomului mărunt-brăzdată cu riduri măşcate, fractura neregulată, granuloasă, cu un inel clar de fascicule conducătoare. Rădăcini numeroase, lungi, în partea inferioară puţin ramificate, cu riduri longitudinale, foarte fragile. Rizomul cu lungimea de 3-8 cm, diametrul 0,8-1,2 cm; rădăcinile – 20 cm lungime şi 1-2 mm în diametru. Produsului vegetal are culoarea cafeniu-închis, pe fractură cafeniu-deschis.

Mirosul neplăcut, caracteristic.

PERIPLOCAE CORTEX – scoarţă de periplocă

Planta producătoare: ***Periploca graeca*** L. – periplocă

Fam. **Asclepiadaceae**

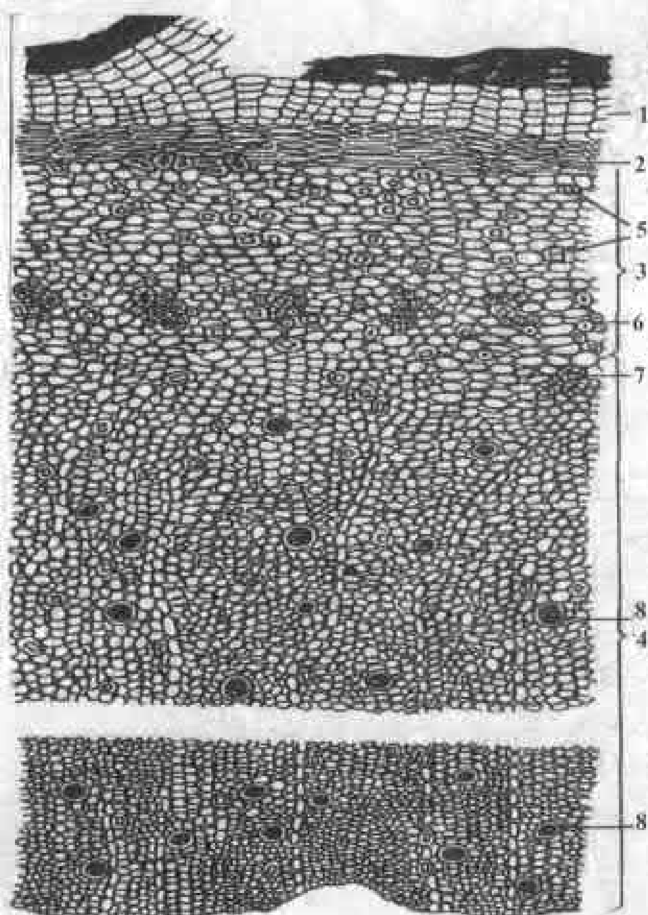


Fig. 57. **Secţiune transversală prin scoarţa de periplocă (x120):** *1* – suber; *2* – colenchim; *3* – scoarţă primară; *4* – scoarţă secundară; *5* – cristale de oxalat de calciu; *6* – fibre liberiene; *7* – celule pietroase; *8* – laticifere

Caractere macroscopice: produs vegetal din scoarță sub formă de jgheab sau tubulară, uneori și cu lăstari tineri. Fragmentele de scoarță au lungimea 10-15 cm, grosimea 2-3,5 cm. Partea externă a scoarței este galben-cenușiu sau cafeniu-deschis, cu riduri longitudinale, lenticele, transversal alungite, evidențiate; internă – netedă sau cu coaste mici, longitudinale, de culoare galben-cenușie. Fractura dreaptă, granuloasă, în partea externă slab fibroasă; fibrele – mătăsoase, moi.

Caractere microscopice: secțiune transversală prin scoarță *(fig. 57)*. Suberul din mai multe (10-15) straturi de celule. Sub el se află colenchimul din celule alungite tangențial. Parenchimul scoarței externe din celule rotunde sau ovale, cu spații intercelulare mari. Razele medulare înguste, monostihe. Însemnătate diagnostică principală au elementele mecanice, laticiferele și cristalele de oxalat de calciu. Celulele pietroase sunt incolore sau puțin gălbui, cu numeroși pori, ce străbat membrana lignificată groasă (reacția cu soluția de floroglucină și acid clorhidric concentrat), situate în grupuri nu prea mari sau solitar, în partea externă a scoarței; se întâlnesc și în liberul secundar, unde formează împreună cu fibrele liberiene un inel mecanic întrerupt.

Fibrele liberiene cu membrană groasă albă, nelignificată au diametrul diferit. Scoarța este străbătută de o rețea de laticifere de tip nearticulat. Pe secțiunea transversală laticiferele sunt rotunde, cu o membrană destul de groasă, cu conținut uleios și granulos, ce se colorează cu sudan III în roșu-portocaliu. În parenchimul scoarței și în celulele colenchimului se întâlnesc numeroase cristale prismatice de oxalat de calciu. Granulele de amidon sunt foarte mici.

Pulberea de scoarță e de culoare galben-cenușiu. În preparat *(fig. 58)* se întâlnesc straturi de celule ale suberului, fragmente de parenchim și raze medulare cu cristale prismatice și granule de amidon. Caracteristice sunt și fragmentele de țesuturi cu laticifere, celulele pietroase și fibrele liberiene.

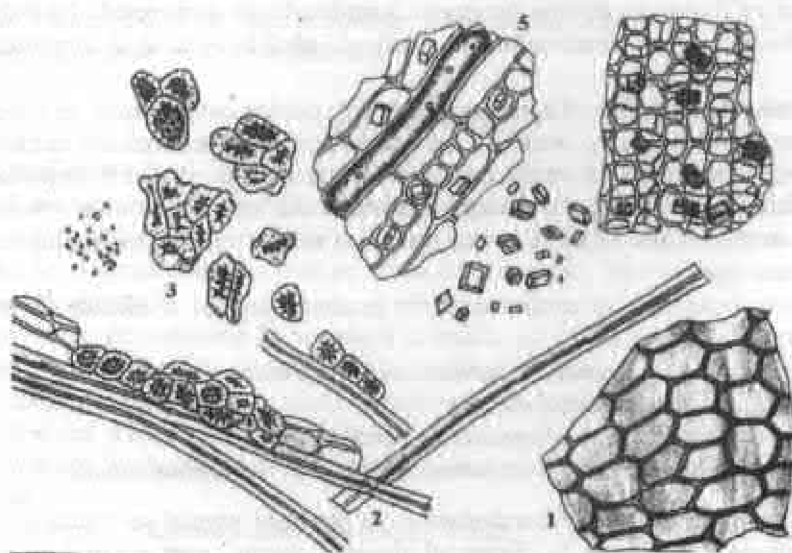


***Fig. 58.* Pulbere de scoarță de periplocă (x280):** *1* – suber; *2* – fibre liberiene; *3* – celule pietroase; *4* – cristale de oxalat de calciu; *5* – laticifere

STROPHANTHI SEMINA – semințe de strofant

Planta producătoare: ***Strophanthus Kombe*** Oliv. – strofant

Fam. **Apocynaceae**

Caractere macroscopice: semințe de strofant oval-lanceolate sau eliptic ascuțite, turtite, având o față mai convexă decât cealaltă, lungi de 12-22 mm și late de 3-5 mm, de culoare verde-cenușie, din cauza perilor deși, mătăsoși și albicioși, orientați de la bază spre vârf.

Miros specific și gust foarte amar.

3.6.2. Analiza chimică

Proprietăți fizico-chimice. Heterozidele cardiotonice, în majoritatea cazurilor, sunt substanțe cristaline, incolore sau albe, uneori cu nuanță gălbuie, fără miros, cu gust amar. Se caracterizează printr-un anumit punct de topire și unghi de rotație bine determinat. Multe dintre ele posedă fluorescentă specifică la lumina ultravioletă. De exemplu, lanatozidele degețelului-lânos au următoarele fluorescențe la lumina UV: lanatozida A – galben-verzuie, lanatozida B – verde-albăstruie, lanatozida C – albastră.

Majoritarea heterozidelor cardiotonice sunt puțin solubile în eter etilic, cloroform, eter de petrol, apă și bine solubile în soluții apoase de alcool metilic și etilic. Cu cât e mai lungă catena glucidică, cu atât heterozidele cardiotonice sunt mai solubile. Agliconii heterozidelor cardiotonice mai bine se dizolvă în solvenți organici.

Heterozidele cardiotonice se supun ușor hidrolizei care poate fi acidă, bazică și fermentativă. Cea mai fină descompunere se produce la hidroliza fermentativă. Din heterozidele inițiale, native la hidroliza fermentativă, se formează heterozide secundare care se deosebesc prin lungimea lanțului glucidic. De exemplu, la hidroliza fermentativă a purpureaheterozidei A mai întâi se formează digitoxina și se desparte molecula de glucoză, apoi se formează digitoxigenina și 3 molecule de digitoxoză. La hidroliza acidă sau bazică are loc descompunerea profundă până la aglicon și componenții glucidici.

Metode de obținere. La extragerea heterozidelor cardiotonice se utilizează solvenți organici (alcool etilic, metilic), care nu hidrolizează heterozidele cardiotonice, iar pentru obținerea heterozidelor secundare se efectuează, în prealabil, hidroliza fermentativă. Dificultatea principală la obținerea heterozidelor cardiotonice constă în faptul că sunt compuși foarte labili și la cea mai mică nerespectare a regimului de temperatură se descompun.

Izolarea heterozidelor cardiotonice din produsul vegetal se efectuează în următoarele etape:

- *extragerea heterozidelor cardiotonice din produsul vegetal;*
- *purificarea extractului obținut;*
- *separarea totalului heterozidelor cardiotonice;*
- *recristalizarea și obținerea heterozidelor cardiotonice individuale.*

Extragerea heterozidelor cardiotonice din produsul vegetal se efectuează cu alcool metilic sau etilic de 70-80 %. Extractul alcoolic obținut, care conține un amestec de heterozide cardiotonice, se supune purificării. Substanțe asociate pot fi pigmenți (clorofila, xantofila, carotenoidele), rășini și alte substanțe organice solubile în alcooli.

Pentru *purificare, extractul* alcoolic vaporizat în vid (temperatura 51-52 °C) se supune tratării repetate cu solvenți organici, cel mai des cu tetraclorură de carbon până

la înlăturarea substanțelor asociate sau se aplică metode sorbționale de purificare, folosind oxidul de aluminiu și filtrele de sticlă.

Separarea totalului heterozidelor cardiotonice se efectuează, de cele mai multe ori, pe coloane cromatografice umplute cu sorbenți (oxid de aluminiu, silicagel). Ulterior zonele necesare se eluează cu anumiți solvenți. Astfel, pentru heterozidele native din genul *Digitalis* eluarea se realizează cu amestec de cloroform și alcool izopropilic (3:1). Eluații obținuți se vaporizează în vid până la uscare (temperatura 51-52 °C), apoi se *recristalizează* până la obținerea substanțelor pure.

Pentru stabilirea structurii heterozidelor cardiotonice se folosesc diferite metode fizico-chimice, spectroscopiile UV, IR, RMP etc. Astfel, în regiunea UV a spectrului inelul lactonic din 5 atomi de carbon determină absorbția intensivă la 215-220 nm, iar regiunea IR se caracterizează prin fâșia de disociere la 1750 cm^{-1} (grupa C=O).

Lipsa reactivilor strict specifici pentru inelul lactonic din 6 atomi de carbon necesită înregistrarea spectrului UV pentru aceste substanțe cu zona caracteristică de absorbție la 300 nm. Absorbția în această regiune se folosește și pentru studierea cromatogramei la iradierea cu lumină UV la lungimea de undă 290–360 nm. În regiunea IR a spectrului inelul lactonic din 6 atomi se caracterizează printr-o zonă intensivă de absorbție la 1730 cm^{-1} (grupa C=O) și două zone la 1640 și 1540 cm^{-1} (legăturile C=C conjugate).

Pentru identificarea structurii substanței o deosebită însemnătate are constatarea numărului de grupe alcoolice și a celor dintre ele care se supun acetilării, adică cele primare și secundare. Numărul total de grupe –OH se poate stabili prin metoda lui *Țerevitinov* (determinarea hidrogenului activ) sau cu ajutorul spectroscopiei IR. Întrucât prima metodă necesită o cantitate însemnată de substanță se aplică metoda spectroscopiei IR, unde se utilizează 1–2 mg de substanță.

Aplicarea acestor metode pentru heterozidele cardiotonice și agliconi e dificilă, deoarece cardenolidele și bufadienoidele, fiind alcooli macromoleculari poliatomici, dau spectre compuse pentru identificare.

Analiza calitativă

Identificare. Deși lipsesc reacții strict specifice, folosirea următoarelor probe permit determinarea prezenței heterozidelor cardiotonice. Reacțiile calitative se efectuează sau cu substanțe individuale, sau cu extracte purificate din produsul vegetal. Extractul se evaporă până la uscat pe sticla de ceasornic, iar reziduul uscat se dizolvă în solventul necesar.

Din cauza deosebirilor în structura chimică, nu există o metodă generală, utilizându-se metode specifice pentru aglicon sau anumite grupe:

1. *Reacții la partea glucidică a moleculei* (2-dezoxizaharuri) – reacția *Keller–Kiliani*, reacția cu xanthidrol;
2. *Reacții la nucleul steroid* – reacția *Liebermann–Bourchard*; reacția *Rosenheim* etc.;
3. *Reacții la inelul lactonic nesaturat.* Pentru stabilirea prezenței inelului lactonic: a) din 5 atomi de C se efectuează reacțiile: *Legal* (cu nitroprusiat de sodiu); *Raymond-Zimmermann* (cu meta-dinitrobenzen); *Kedde* (cu acidul 3,5-dinitrobenzenic); *Baljet* (cu acidul picric). Reacțiile se efectuează în mediu bazic. b) din 6 atomi de C: reacția *Rocques* (cu acid fosforic); reacția *Vincent* (hidroxilamină, clorură ferică).

Pregătirea extractului: 5,0 g de frunze mărunțite de *Digitalis* se acoperă cu 50 ml alcool etilic 80 % și se macerează 24 de ore. Alcoolul se distilează în vid, soluția apoasă se spală pe pâlnia de separare de 6 ori cu câte 10 ml tetraclorură de carbon. Heterozidele cardiotonice se extrag de 4 ori cu câte 10 ml amestec de cloroform–alcool izopropilic (3:1). La extractul obținut se adaugă 2 g Na_2SO_4 anhidru, se lasă pe 3-5 minute, apoi se filtrează prin hârtie de filtru.

Reacții calitative: *Reacția Keller-Killiani.* Se pregătesc două soluții: 1) acid acetic glacial, care conține urme de $Fe_2(SO_4)_3$; 2) acid sulfuric concentrat cu urme de $Fe_2(SO_4)_3$. Reziduul uscat al extracției purificate se dizolvă în prima soluție și cu atenție, pe peretele eprubetei, se adaugă soluția doi. În prezența dezoxizaharurilor, peste un timp, stratul superior se colorează în albastru.

Reacția Liebermann-Bourchard. Reziduul uscat al extracției purificate se dizolvă în acid acetic glacial și se adaugă amestec de anhidridă acetică și acid sulfuric concentrat (50:1). La prezența heterozidelor cardiotonice, peste un timp, se schimbă culoarea din roz în verde și albastru.

Reacția Rosenheim. Reziduul uscat al extracției purificate se dizolvă în cloroform, apoi se adaugă soluție apoasă de acid tricloracetic 90 %. Apar culori ce alternează de la roz până la violet și albastru intens.

Reacția Legal. Se pregătesc două soluții: 1) soluție de nitroprusiat de sodiu 5 %; 2) soluție de hidroxid de sodiu 10 %. Reziduul uscat al extracției purificate se dizolvă în 0,5 ml alcool metilic 100 %. Soluția obținută se toarnă în eprubetă, se adaugă 1-2 picături din soluția 1. Apoi, atent, fără a agita, pe peretele eprubetei se toarnă 1-2 picături de soluția 2. La contopirea celor două soluții apare un inel de culoare roșie.

Reacția Raymond-Zimmermann: 1 ml soluție de analizat se evaporă la sec într-o eprubetă. Reziduul se tratează cu 2-3 picături alcool, 2 picături soluție alcoolică de metadinitrobenzen 1 % și 2-3 picături KOH 5 %. Reacția este pozitivă dacă soluția se colorează în roșu.

Reacția Kedde: 2 ml soluție de analizat se evaporă la sec într-o eprubetă; reziduul se reia cu 2 ml etanol, se adaugă 1 ml soluție acid 3,5-dinitrobenzoic 2% în etanol și 0,5 ml NaOH 1N. Dacă reacția este pozitivă, apare o colorație violacee.

Reacția Baljet: 1-2 ml soluție de analizat se evaporă la sec într-o eprubetă; reziduul se tratează cu un amestec format din volume egale de soluție de acid picric 1 % în alcool și hidroxid de sodiu 10 %. În prezența glicozidelor cardiotonice apare o colorație portocalie.

Reacția Rocques: 3-4 ml soluție cloroformică se evaporă la sec pe baia de apă, iar reziduul se dizolvă în 2-3 ml acetonă; 1 ml servește ca martor, iar restul soluției se tratează cu câteva picături de acid fosforic (d=1,7 și concentrația minimă 85 %); se menține 15 minute la 35 °C, apoi se răcește. Apare o colorație galbenă> portocalie >roșie.

Reacția Vincent: 3-4 ml soluție cloroformică se evaporă la sec pe baia de apă, iar reziduul se tratează cu 0,5-1 ml KOH 10 % și 2-3 picături hidroxilamină, se încălzește până la fierbere ușoară, se răcește și se adaugă HCl 10 % până la reacție acidă, și 1-2 picături soluție $FeCl_3$ 1 %, apare o colorație roșie.

Reacția cu xanthidrol: 2 ml soluție de analizat se evaporă la sec într-o capsulă; reziduul se dizolvă într-o soluție de xanthidrol preparată la necesitate din 0,01 g xanthidrol în 100 ml acid acetic și 1 ml acid clorhidric. Amestecul se încălzește, iar după 3-5 minute, în prezența dezoxiozelor, apare o colorație roz-roșie.

La identificarea heterozidelor cardiotonice se utilizează pe larg cromatografia în strat subţire.

Identificarea heterozidelor cardiotonice în *Digitalis purpureae folia*. Cromatografie în strat subţire (Ph.Eur.).

La 1,0 g de produs vegetal fragmentat de degeţel roşu se adaugă un amestec din 20 ml etanol 50 % şi 10 ml soluţie acetat de plumb. Amestecul se fierbe 2 minute, apoi se răceşte şi se centrifugează. Se agită soluţia supernatant de două ori cu câte 15 ml de cloroform, la necesitate separând straturile prin centrifugare. Straturile de cloroform se unesc şi se usucă cu sulfat de sodiu anhidru, apoi se filtrează. 10 ml din soluţia obţinută se evaporă la baia de apă, iar reziduul uscat obţinut se dizolvă în 1 ml format din părţi egale de cloroform, alcool etilic şi metilic.

Soluţie de referinţă. Se dizolvă: 5 mg de purpureaheterozida A, 2 mg purpureaheterozida B, 5 mg digitoxină şi 2 mg gitoxină în amestec din volume egale de cloroform şi metanol, apoi se adaugă până la 10 ml acelaşi amestec de solvenţi.

Pe linia de start a plăcii cromatografice cu silicagel, cu pipeta cu vârful alungit, se aplică proba şi soluţiile de referinţă în volume de 20 µl, în benzi cu lungimea de 20 mm şi lăţimea de 3 mm. Placa se plasează în cameră şi se cromatografiază ascendent 30-35 minute. Distanţa de parcurgere a fazei mobile e de cel puţin 10 cm de la linia de start. În calitate de fază mobilă se foloseşte apă-alcool metilic-etilacetat (7,5:10:75). Placa se usucă la aer, până la evaporarea solventului, apoi se tratează cu amestec din 2 volume soluţie de cloramină 10 g/l şi 8 volume soluţie de acid tricloracetic 250 g/l în alcool etilic 96 %. Placa se încălzeşte la temperatura de 100-105 °C, timp de 10 minute în dulapul de uscare şi se examinează în ultraviolet la lungimea de undă 365 nm.

Rezultate. În partea de jos a cromatogramei soluţiei de referinţă se obeservă o zonă fluorescentă în culoare albastră-deschis (purpureaheterozida B), puţin mai sus – zonă fluorescenţă în galben-cafeniu (purpureaheterozida A). La mijlocul cromatogramei se identifică gitoxina, fluorescează în albastru-deschis, şi mai sus de ea, în spoturi galbene-cafenii, fluorescează digitoxina. Pe cromatograma soluţiei de analizat se observă zone care după aranjare, culoare şi mărime corespund zonelor de pe cromatograma cu soluţia de referinţă. Pe cromatograma soluţiei de analizat se pot observa şi alte zone fluorescente.

Analiza cantitativă

Determinarea conţinutului unei heterozide cardiotonice în prezenţa alteia, nu e posibilă, reactivii propuşi pentru determinarea cantitativă a heterozidelor fiind generali. Se consideră de perspectivă combinarea cromatografiei cu fotometria, potenţiometria, polarografia, fluorimetria etc.

Rezultate satisfăcătoare se obţin la cromatografia pe hârtia îmbibată cu formamidă. În acest caz, folosirea sistemelor benzen–cloroform (9:1); (7:5); (3:7) sau toluen–butanol-n (9:1); (4:1); (2:1); (1:1), amestecuri cu componenţa acetat de etil–benzen–apă (84:16:50), cloroform–benzen–butanol-n (78:12:5) sau simplu cloroform în calitate de fază mobilă, permit separarea clară a diferitor grupe de heterozide. În calitate de sorbent se pot folosi talcul, silicagelul, chizelgurul etc. Se utilizează aceleaşi sisteme ca şi pentru cromatografia pe hârtie.

Pentru identificarea heterozidelor pe cromatograme se folosesc reactivii care provoacă fluorescență sau colorare. Cel mai des se utilizează amestecul de acid tricloracetic 25 % și soluția de cloramină 3 % în alcool etilic (15:1). La lumina UV derivații digitoxigeninei manifestă fluorescență clară galben-aurie; gitoxigeninei – albastră; digoxigeninei – gri-deschis.

Pentru determinarea cantitativă, cele mai simple și accesibile se consideră metodele fotometrice – fotometria și spectrofotometria heterozidelor cardiotonice și a aglíconilor lor în regiunea spectrului vizibil. Aceste metode sunt bazate pe reacțiile colorate ale heterozidelor cardiotonice cu diferiți nitroderivați (picrat de sodiu, 3,5-dinitrobenzen) sau cu xanthidrol. Pentru pregătirea soluției etalon pot fi folosite heterozidele cristaline. Întrucât este dificilă obținerea, au fost recomandate soluțiile de bicromat de potasiu și sulfit de sodiu.

Metodele fluorimetrice se bazează pe capacitatea heterozidelor de a prezenta fluorescență la acțiunea acizilor puternici (sulfuric, fosforic concentrați) și oxidanților (perclorat de fier, fier clorat) după iradiere scurtă cu lumina UV. Aceste metode sunt aplicate numai pentru heterozidele cardiotonice care în urma deshidratării formează mono- și dihidrocompuși.

La baza metodelor polarografice de determinare a heterozidelor cardiotonice stă capacitatea lor de a se reduce la electrodul cu mercur „în picatură" la potențialele de 1,9-2,0 V, formând curenți de difuziune, ale căror unde sunt proporționale concentrației heterozidelelor cardiotonice.

În prezent, pentru determinarea cantitativă a heterozidelor cardiotonice se folosește metoda cromatografică gazofluidă (CGF). Prin această metodă heterozidele cardiotonice se transformă la început în derivați volatili prin sililare și obținerea heptafluorbutiraților, iar apoi se supun analizei.

Documentația analitică de normare (DAN) a produsului vegetal, care conține heterozide cardiotonice, paralel cu metodele fizico-chimice de determinare cantitativă, propune standardizarea produsului prin metode biologice.

Dozarea heterozidelor cardiotonice în *Digitalis purpureae folia* *(Ph. Eur.)*. 0,250 g de produs vegetal fragmentat (proba exactă) se agită cu 50,0 ml apă distilată timp de o oră, apoi se adaugă 5,0 ml soluție de acetat de plumb 150 g/l, se agită și peste câteva minute se adaugă 7,5 ml soluție de hidrofosfat de sodiu 40 g/l. Soluția se filtrează prin filtru de hârtie plisat. La 50,0 ml soluție filtrată se adaugă 5,0 ml soluție de acid clorhidric 150 g/l și se extrage la baia de apă cu refrigerent ascendent, timp de 1 oră. Conținutul obținut se trece în pâlnia de separare, balonul se spală de 2 ori cu câte 5,0 ml apă, apoi se agită cu cloroform, de 3 ori cu 25 ml, pentru o extragere deplină. Straturile cloroformice se unesc, se usucă cu sulfat de sodiu anhidru, se aduc cu cloroform până la volumul de 100,0 ml. 40,0 ml din soluția obținută se evaporă până la uscare deplină, reziduul obținut se dizolvă în 7,0 ml etanol 50 %, se adaugă 2,0 ml soluție de acid dinitrobenzoic și 1,0 ml soluție de hidroxid de sodiu 1 M.

Soluție de referință: 50,0 mg de *digitoxină* se dizolvă în etanol de 96 % și se completează până la 50,0 ml cu același solvent. 5,0 ml din soluția obținută se diluează cu etanol 96 % până la volumul de 50,0 ml. La 5,0 ml din soluția obținută se adaugă 25,0 ml apă și 3,0 ml soluție de acid clorhidric 150 g/l, se încălzește timp de 1 oră la baia de apă cu refrigerent ascendent, apoi continuăm similar descrierii de mai sus pentru proba de analizat.

Absorbanta celor două soluții se măsoară la 540 nm de mai multe ori în primele 12 minute, până când se ajunge la rezultate maxime, utilizând ca control amestecul din 7 ml etanol 50 %, 2,0 ml acid dinitrobenzoic și 1,0 ml soluție hidroxid de sodiu 1M. Conținutul de heterozide cardiotonice se calculează după măsurarea absorbanței și concentrațiilor soluțiilor probă și de referință, în recalcul la digitoxină, %.

Dozarea lanatozidelor A, B, C în *Digitalis lanatae folia*. Metoda este bazată pe separarea cromatografică a heterozidelor cardiotonice cu determinarea spectrofotometrică ulterioară.

5,0 *g* de produs vegetal fragmentat (proba exactă), trecut prin sita cu diametrul orificiilor de 1 mm, se introduce în balonul de sticlă întunecată cu dop rodat, se adaugă 50 ml de alcool metilic 80 % și se macerează 24 de ore. Lichidul se filtrează prin pâlnia *Buhner* și pentru determinare se i-au 40 ml (corespund la 4 g de produs vegetal). Extractul se evaporează pe baia de apă în vid la temperatura de 50-60 °C până la înlăturarea alcoolului. La volumul rămas (3-4 ml) se adaugă 5-7 ml de apă și se trece în pâlnia de separare. Soluția apoasă se purifică, adăugând de 5 ori câte 10 ml tetraclorură de carbon. Din soluția apoasă purificată heterozidele se extrag de 4 ori a câte 10 ml de amestec de cloroform și izopropanol. Extractul cloroform-izopropanol se deshidratează cu sulfat de sodiu anhidru și se filtrează prin filtru de hârtie. Pe filtru, sulfatul de sodiu se spală cu 5 ml de amestec deshidratat, care se adaugă la filtrat și se distilează până la uscat în vid pe baia de apă la 50 °C. Reziduul uscat se trece cantitativ într-un picnometru calibrat cu capacitatea de 3 ml cu ajutorul amestecului cloroform–alcool metilic (1:1). Soluția obținută se supune cromatografierii.

Cromatograma în strat subțire. Pe linia de start a plăcii cromatografice se aplică cu pipeta cu vârful alungit în capilar câte 0,01 ml soluție obținută (proba) și soluție de referință (abicină). Placa se plasează în cameră, se cromatografiază ascendent 30-35 minute. Distanța de parcurgere a fazei mobile este 12 cm de la linia de start. În calitate de fază mobilă se utilizează sistemul: cloroform–alcool etilic–benzen–formamidă (59:10:30:1). Placa se usucă la aer 5 min și 10 min în dulapul de uscare la 120 °C. O jumătate de placă (sol. referință) și un spot al extracției se tratează cu soluție de acid tricloracetic 25 % în alcool etilic, adăugând cloramină T 0,2 %. După prelucrare, placa se ține 10 minute în dulapul de uscare la temperatura de 120 °C. Lanatozidele se revelează în spoturi de culoare albastră-gri. Limitele se stabilesc la lumina ultravioletă. Lanatozida A posedă fluorescentă galbenă-deschis; B – albastră-verzuie; C – albastră. Pe a doua jumătate de placă (neprelucrată), spoturile lanatozidelor se marchează după fâșia developată și după standard. R_f spoturilor lanatozidelor în acest sistem: A–0,74; B–0,43; C–0,24.

După stabilirea limitelor, spoturile lanatozidelor A, B, C de pe placa neprelucrată (proba) se trec cantitativ pe filtrul de sticlă nr. 4 și se eluează cu 20 ml amestec de cloroform–alcool metilic (1:1). Eluatul se evaporează până la uscat pe baia de apă în vid la temperatura de 50–60 °C. La reziduul uscat se adaugă 5 ml xanthidrol, se încălzește 5 minute pe baia de apă, se răcește 5 minute în apă rece și se menține 15-20 minute la temperatura camerei. Apare o colorație roză până la zmeurie. Se determină densitatea optică la spectrofotometru, la lungimea de undă 528–532 nm, cuva cu grosimea de 1 cm. În calitate de control servește eluatul de pe sorbentul pur. Graficul de calibrare se construiește după lanatozida C (celanidă), iar conținutul procentual al lanatozidei în produsul vegetal absolut uscat se calculează după formula:

$$X = \frac{1{,}05 \times a \times V_1 \times 10}{V_2 \times m \times 100000},$$

în care: a – cantitatea de substanță identificată după graficul de calibrare; V_1 – volumul extractului, ml (picnometru); V_2 – volumul extractului aplicat pe placă, ml; m – masa probei de produs vegetal absolut uscat, g; *1,05* – coeficient de corecție.

Pregătirea camerei pentru cromatografiere. În calitate de fază mobilă se folosește sistemul alcool etilic de 95 %–benzen–cloroform–formamidă (10:30:59:1). Sistemul se agită 10 minute în pâlnia de separare, se stratifică 10 min și se toarnă în cameră astfel ca stratul de sus de formamidă să nu nimerească în cameră. Saturarea camerei 20-25 minute. Pentru o mai bună saturare a camerei pereții se acoperă cu hârtie de filtru. Exteriorul camerei se acopă cu hârtie neagră. Pentru cromatografierea ulterioară sistemul se schimbă.

Pregătirea reactivului xanthidrol. 10 mg de xanthidrol se dizolvă în 99 ml de acid acetic glacial și se adaugă 1 ml de acid clorhidric concentrat. Soluția de acid tricloracetic 25 % cu adaos de cloramină T de 2 % se prepară nemijlocit înainte de developare.

Construirea graficului de calibrare. Graficul de calibrare se construiește după soluția standard lanatozidă C (celanidă). 25 mg de celanidă se dizolvă în 25 ml de amestec alcool metilic–cloroform (1:1) în balon cotat. Soluția se aplică pe placa cromatografică în cantitate de la 0,01 ml până la 0,08 ml, apoi se procedează ca în cazul extracției de analizat.

Dozarea heterozidelor cardiotonice în *Convallariae folia.* Metoda este bazată pe separarea cromatografică a heterozidelor cardiotonice cu determinarea spectrofotometrică ulterioară.

În balonul cu fund rotund de 250 ml, unit cu un refrigerent ascendent, se adaugă 50 ml alcool etilic 70 % și se încălzește până la fierbere, apoi se adaugă rapid 5 g frunze de lăcrămioară uscate și fragmentate (sita cu diametru 3 mm) și se fierbe 30 min. Soluția se răcește, se adaugă alcool etilic 70 % până la restabilirea masei inițiale. Extractul obținut se filtrează, se iau 27,5 g (corespund la 2,5 g produs vegetal) și se distilează alcoolul în vid la 55–60 °C. La extractul cald se adaugă 3 ml soluție acetat de plumb bazic, se amestecă 10 minute, se centrifughează 5 minute, la viteza de 5000 rotații/min. Precipitatul se spală de 2 ori, adăugând câte 10 ml apă, cu centrifugare ulterioară. Din extracția apoasă purificată heterozidele cardiotonice se extrag cu amestec de cloroform–alcool metilic (4:1).

Extractul se filtrează prin sulfat de sodiu anhidru, filtrul se spală. Din extract solventul se distilează în vid pe baia de apă până la 3-4 ml, apoi soluția de heterozide se evaporă până la 1 ml, reziduul se usucă. Reziduul uscat se dizolvă în 1 ml amestec de cloroform–alcool metilic (1:1). Se supune cromatografierii pe hârtie prin metoda ascendentă în sistemul acetat de etil – apă (2:1) timp de 20-24 ore. Are loc separarea convalatoxinei de dezglucoxeurotoxină.

La cromatografierea prin metoda descendentă se produce separarea convalozidei, locundezidei și convalatoxolului. Eluarea se efectuează cu soluție saturată de triclorură de stibiu în alcool metilic. Spoturile heterozidelor se colorează în roz-violet. Solventul se distilează în vid. Reziduul se dizolvă în alcool metilic, se adaugă picrat de sodiu, se filtrează și se măsoară densitatea optică. În calitate de martor servește amestecul din aceleași cantități de alcool metilic și picrat de sodiu. Densitatea optică se măsoară la spectrometru, lungimea de undă 494 nm, cuva cu grosimea de 1 cm. Cu ajutorul graficului gradat al convalatoxinei standard se determină conținutul heterozidelor în 1 ml de eluat.

3.7. Produse vegetale cu conținut de saponozide

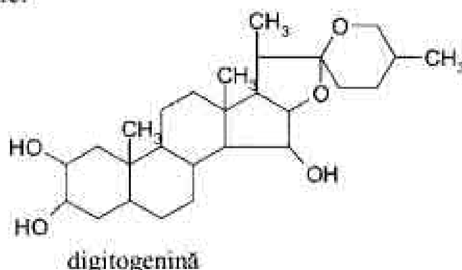
Definiție

Saponozidele sunt compuși macromoleculari naturali vegetali care constau din carbon, hidrogen și oxigen, și posedă un șir de proprietăți specifice, inclusiv formarea spumei persistente, hemoliza eritrocitelor și toxicitate pentru animalele cu sânge rece (pești).

Clasificare

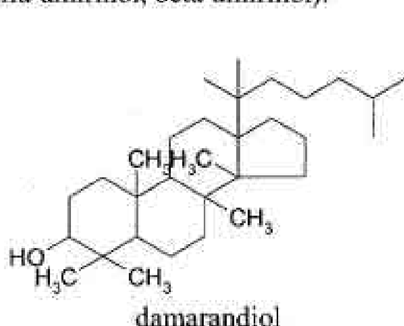
După structura agliconului (sapogeninei), saponozidele se împart în două grupe: steroidice și triterpenice.

I. Saponozidele steroidice, numite și neutre (sapotoxine), sunt derivați ai ciclotentanperhidrofenantrenei, care în poziția 17 conține o catenă spirocetalică, alcătuită din 8 atomi de carbon dispuși în spirală, cu formarea a două inele: furanic și piranic.

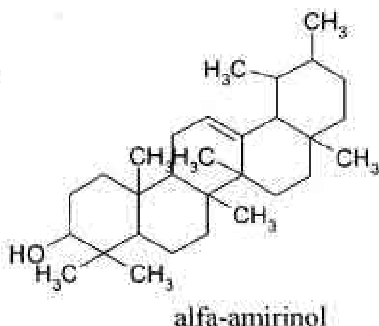


digitogenină

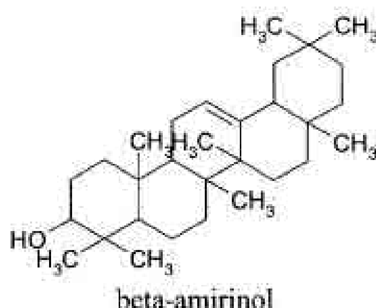
II. Saponozidele triterpenice (acide) au în structura lor agliconi cu 30 de atomi de C, care pot fi tetraciclici (derivați de damaran) sau pentaciclici (derivați de alfa-amirinol, beta-amirinol).



damarandiol



alfa-amirinol



beta-amirinol

3.7.1. Caractere macro- şi microscopice

ARALIAE MANDSHURICAE RADICES – rădăcini de aralie

Planta producătoare: ***Aralia mandshurica*** Rupr. et Maxim. – aralie

Fam. **Araliaceae**

Caractere macroscopice: rădăcini întregi sau fragmente longitudinale de 10-15 cm lungime şi 3 cm în diametru. Sunt uşoare, cu riduri longitudinale şi suber decorticat. Scoarţa subţire, uşor se desprinde de lemn, de culoare brună-cenuşie. Fractura ţepoasă, gălbuie-cenuşie sau albă.

Gust slab astringent, amărui, miros slab aromat.

DIOSCOREAE RHIZOMATA CUM RADICIBUS – rizomi cu rădăcini de dioscoree

Plante producătoare: ***Dioscorea caucasica*** Lipsky; ***Dioscorea nipponica*** Makino – dioscoree

Fam. **Dioscoreaceae**

Caractere macroscopice: rizomi întregi sau fragmentaţi, de la 0,5 cm până la 4 cm lungime, cu puţine rădăcini. Rizomul este gros, strâmb, multicapitat, cu ramificaţii scurte în formă de tubercul. Suprafaţa netedă, pe alocuri neuniform îngroşată. Rădăcini cilindrice, aspre, de 30 cm lungime şi 0,5-1,0 cm grosime.

Produs vegetal de culoare cafenie. Fractura – dreaptă, albă sau galben-deschis.

Miros slab, caracteristic, gust amărui, puţin arzător, iritant.

ECHINOPANACIS RHIZOMATA CUM RADICIBUS – rizomi cu rădăcini de echinopanax

Planta producătoare: ***Echinopanax elatum*** Nakai – echinopanax

Fam. **Araliaceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din bucăţi de rizomi cu rădăcini. Rizomii lignificaţi, de formă neregulată, încovoiaţi, ramificaţi, mai rar cilindrici, cu îngroşări slab-inelare, de la care pornesc rădăcini adventive. Suprafaţa acoperită cu riduri de culoare galbenă-cenuşie. Rădăcinile puţine la număr, cilindrice, foarte încovoiate, cu riduri longitudinale adânci. Culoarea rădăcinilor cenuşie-gălbuie, în fractură – albă-gălbuie. În scoarţă se observă pete portocalii ale canalelor secretoare. Dimensiunile rizomilor: până la 35 cm lungime şi 2 cm grosime; ale rădăcinilor: până la 10 cm lungime şi aproximativ 1 cm grosime.

Gust amărui, puţin astringent; miros caracteristic, în fractură puternic.

ELEUTHEROCOCCI SENTICOSI RHIZOMATA CUM RADICIBUS – rizomi cu rădăcini de eleuterococ

Planta producătoare: ***Eleutherococcus senticosus*** Maxim. – eleuterococ

Fam. **Araliaceae**

Caractere macroscopice: rizomi cu rădăcini întregi sau fragmente longitudinale de 50 cm lungime şi 1-4 cm în diametru. Suprafaţa rizomului netedă sau rugoasă, cu urme de rădăcini adventive rupte. Fractura fibroasă, galben-deschis. Cu lupă, pe secţiunea transversală a rizomului se observă scoarţa îngustă roz-albă cu puncte ale canalelor secretoare, lemnul alb-gălbui cu raze medulare bine determinate şi măduva albă în centru.

Gust amărui, slab arzător, mirosul aromat.

EQUISETI HERBA – părţi aeriene de coada-calului

Planta producătoare: ***Equisetum arvense*** L. – coada-calului

Fam. **Equisetaceae**

Caractere macroscopice: fragmente de tulpini lungi, aspre, fistuloase, cu internoduri prevăzute cu striuri adânci longitudinale. Ramurile (câte 6-18 în verticil), lipsite de lacună centrală, cu 4-5 coaste proeminente, îndreptate pieziş în sus. Frunzele sunt reduse, în formă de teacă tubulară cu dinţişori triunghiular-lanceolaţi, cafenii-negre, cu margine albă; zimţii sunt concrescuţi câte 2-3. Culoarea produsului verde-cenuşie, fără miros.

Impurificări posibile: *Eguisetum silvaticum* L. – are ramuri subţiri, dublu ramificate, dispuse orizontal sau oblic în jos. Cu lupă, pe coastele tulpinii se observă papilare mici; *E. pratense* Ehrh. – ramurile sunt dispuse pe tulpină aproape orizontal, dinţişorii tecii sunt liberi; pe vârfurile tulpinilor sunt papilare (cu lupa); *E. palustre* L. – după caracterele macroscopice se aseamănă mult cu *E.arvense*, deosebindu-se doar prin ramurile goale înăuntru, dinţişorii liberi, cu chenar lat, alb pe margine. Primele segmente ale ramurilor la bază sunt de culoare neagră. *E. fluviatile* L. – tulpina groasă cu o cavitate lată şi cu ramuri scurte, puţin numeroase, dimensiuni mai mari decât la *E. arvense*.

GINSENG RADICES – rădăcini de ginseng

Planta producătoare: ***Panax ginseng*** Meyer – ginseng (rădăcina-vieţii)

Fam. **Araliaceae**

Caractere macroscopice: rizomi scurţi (1-2 cm, mai rar 8 cm) şi rădăcini pivotante, cărnoase, de 15-25 cm lungime. Coletul de obicei subţire (0,5-0,7 cm în diametru), cu cicatrice inelare de la tulpinile terestre, care anual se usucă. La vârf rizomul este lărgit („căpşorul") şi are un mugure ce iernează. Rădăcina pivotantă („corpul") formează, de regulă, un unghi cu rizomul. Ea este groasă (0,7-2,5 cm în diametru), fusiformă, cu riduri longitudinale, îngroşări inelare, transversale în partea superioară. La bază se ramifică în două, trei sau mai multe rădăcini laterale („picioare"). Există ramificări şi de la rizom – rădăcini adventive („mâini"). În funcţie de dimensiuni, forma rădăcinii şi numărul de ramificaţii produsul vegetal se împarte în patru clase, fiecare divizându-se în funcţie de masă.

Culoarea rădăcinii albă-gălbuie şi aproape albă în fractură. Gustul amărui, caracteristic, mirosul specific.

Caractere microscopice: secţiune transversală prin rădăcină *(fig. 59)*. Ţesutul protector al rădăcinii prezintă câteva straturi ale scoarţei, formate din celule brun-deschis, cu pereţi subţiri. Urmează parenchimul scoarţei – celule mari, alungite tangenţial, cu membrane puţin îngroşate. În straturile inferioare celulele sunt ovale sau rotunde. Linia cambiului trece aproximativ prin mijlocul razei rădăcinii, uneori scoarţa este puţin mai lată decât lemnul. Elementele conducătoare ale liberului şi lemnului sunt dispuse în sectoare radiale înguste între razele medulare late, caracteristic pentru structura rădăcinii de ginseng. În secţiune transversală, elementele conducătoare ale liberului sunt mici, cu pereţi subţiri, dispuse în grupuri triunghiulare.

Între celulele parenchimului scoarţei se află canalele secretoare cu conţinut galben-deschis până la roşiatic-cafeniu. Canalele interne sunt mici, în secţiune transversală ovale sau rotunde; conţinutul galben-deschis. Canalele externe, mai bătrâne, sunt mai

mari, în secțiune transversală ovale; unele turtite, cu conținut abundent roșiatic-cafeniu. Cu cât canalele sunt mai mature, cu atât culoarea este mai închisă, fiind dispuse cât mai departe de linia cu elemente conducătoare.

Vasele lemnoase sunt înguste, dispuse în raze medulare într-un rând; rareori se întâlnesc câte două vase alături. În multe cazuri se întâlnesc vase oblic și chiar longitudinal tăiate (schimbarea direcției vaselor este rezultatul deformării țesuturilor în timpul creșterii rădăcinii). Celulele parenchimului lemnos sunt mici. În centrul rădăcinii – un sector de lemn primar în formă de steluță.

Parenchimul scoarței și al razelor medulare conține amidon. Granulele de amidon sunt mici, rotunde, simple, foarte rar adunate câte 2-6. Mult amidon se conține în parenchimul scoarței și în razele medulare, în parenchimul lemnos aproape lipsește. Unele celule separate ale parenchimului conțin druze de oxalat de calciu.

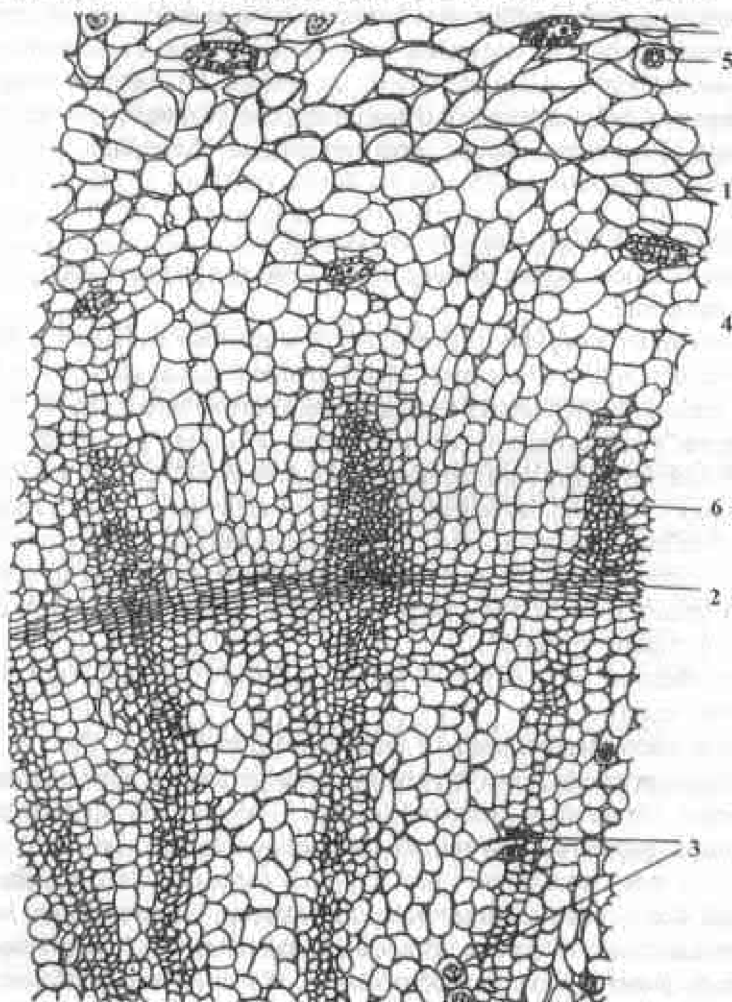


***Fig. 59.* Secțiune transversală prin rădăcina de ginseng (x120):**
1 – parenchimul scoarței; *2* – cambiu; *3* – vase lemnoase; *4* – canale secretoare;
5 – druze de oxalat de calciu; *6* – elemente conducătoare de liber

GLYCYRRHIZAE RADICES – rădăcini de lemn-dulce

Plante producătoare: ***Glycyrrhiza glabra*** L.; ***G. uralensis*** F. – lemn-dulce

Fam. **Fabaceae**

Se utilizează două produse vegetale: *Glycyrrhizae radices naturalis* – rădăcini nedecorticate şi *Glycyrrhizae radices mundata* – rădăcini decorticate.

Caractere macroscopice: fragmente de rădăcini şi stoloni de lungime diferită, în diametru 0,5-5 cm. Suprafaţa rădăcinilor nedecorticate şi a stolonilor cafeniu-deschis cu riduri longitudinale, a celor decorticate – galben-deschis. Fractura foarte fibroasă, galbenă-deschisă. Gust dulce, caracteristic, înţepător.

Caractere microscopice: secţiune transversală prin rădăcină (*fig. 60*). Este bine pronunţată structura radiară a rădăcinii. Rădăcinile nedecorticate au la suprafaţă un suber pluristratificat, sub care se află celulele mari ale parenchimului, alungite tangenţial. Rădăcinile decorticate nu au suber, fiind înlăturat împreună cu o parte din scoarţă. În scoarţă se văd bine razele medulare late, pluristratificate, ce se lărgesc spre periferie în formă de pâlnie, şi sectoarele de liber.

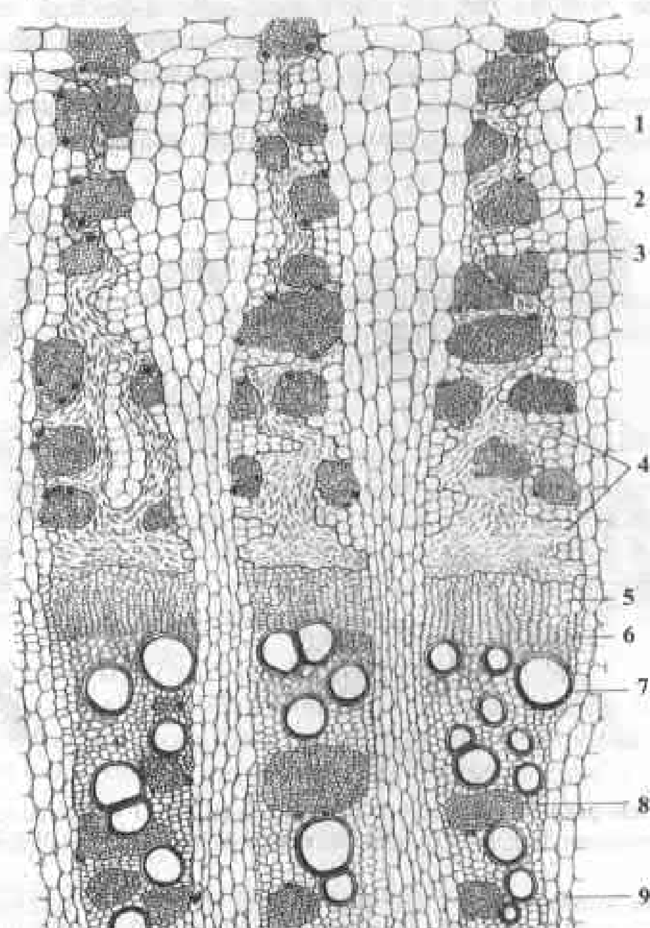


***Fig. 60.* Secţiune transversală prin rădăcina de lemn-dulce (X80):** *1* – parenchimul scoarţei; *2* – fibre liberiene; *3* – teacă cristaligenă, *4* – liber obliterat; *5* – liber funcţional; *6* – cambiu; *7* – vase lemnoase; *8* – libriform; *9* – raze medulare

Elementele conducătoare ale liberului aproape pe toată lungimea sunt deformate (turtite, obliterate), cu membrane umflate, albe sau gălbui, ce şi-au pierdut structura celulară. Sectorul de liber obliterat triunghiular cu baza îndreptată spre cambiu, unde s-a păstrat o fâşie de liber funcţional, şi cu vârful alungit, sinuos între grupurile de fibre liberiene, spre periferie. Cambiul se observă bine numai în sectoarele dintre liber şi lemn. Lemnul, ca şi scoarţa, e divizat de raze medulare late în fâşii radiare, în care sunt dispuse în grupuri mici sau solitar vase, grupuri de fibre lemnoase şi celule ale parenchimului lemnos.

În centrul rădăcinii se află un sector de parenchim primar; la stoloni – măduva. Fibrele mecanice, liberiene şi lemnoase au structură identică – membrana lor este foarte groasă, lignificată numai la exterior, straturile interne fiind de celuloză (reacţia cu floroglucină şi acid clorhidric concentrat). Grupurile de fibre sunt înconjurate de înveliş cristaligen. Parenchimul scoarţei şi al lemnului conţine granule de amidon simple, rotunde sau ovale, cu 2-14 μm în diametru. Mult amidon (colorare cu soluţia *Lugol*) conţin celulele razelor medulare.

Pulberea de rădăcini *(fig. 61)* e de culoare galbenă-deschisă. Importanţă diagnostică au grupurile de fibre cu teci cristaligene din cristale prismatice; fragmentele de vase cu segmente late şi scurte (în formă de butoiaşe) cu pori în formă de chenar; reticulare – mai înguste; fragmentele de traheide cu pori în formă de chenar; celulele parenchimului cu granule de amidon separate; fragmentele ţesuturilor scoarţei şi liberului obliterat.

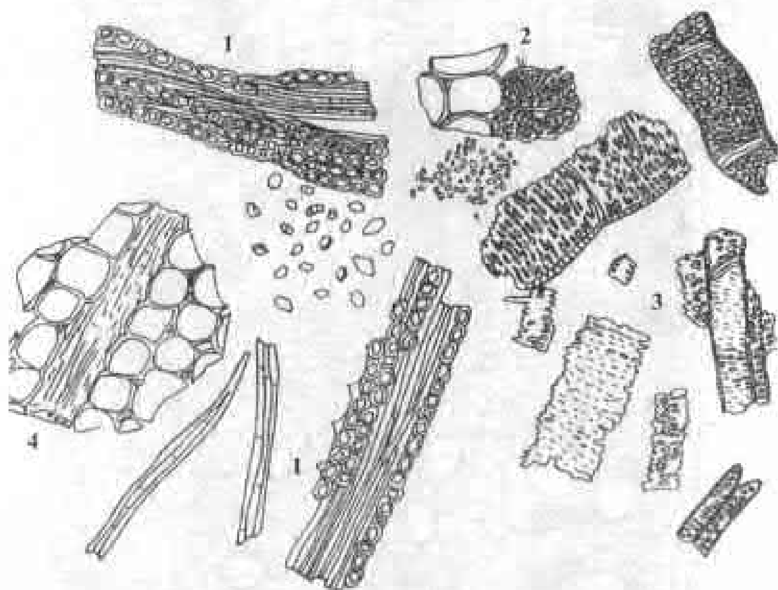


***Fig. 61.* Elementele pulberii rădăcinii de lemn-dulce (x280):** *1* – fibre cu teci cristaligene; *2* – parenchim cu amidon; *3* – fragmente de vase; *4* – fragmente de ţesuturi obliterate

Microscopia luminescentă (raze ultraviolete). Secţiune transversală prin rădăcina de lemn-dulce uscată fără lichid de includere. Suber mat, cafeniu-închis. În straturile exterioare ale scoarţei predomină luminescenţa portocalie-cafenie, se întâlnesc şi incluziuni galbene, şi azurii. Pe lungimea razelor medulare o luminescenţă portocalie-cafenie intensă. Liberul în zona precambială cu o luminescenţă albastră-deschisă, ele-

mentele obliterate albastre-cenușii, grupurile de fibre mecanice în liber și lemn – cenușii-verzui-albastre, luminescența pereților celulari ai vaselor lemnoase – verde-gălbuie. În partea centrală a stolonilor se observă măduva care are același caracter de luminescență ca și scoarța. La prelucrarea secțiunilor cu vapori de amoniac țesuturile cu o luminescență portocalie-cafenie capătă o luminescență galbenă-aurie

HERNIARIAE HERBA – părți aeriene de feciorică
Planta producătoare: ***Herniaria glabra*** L. – feciorică (săpunaș)
Fam. **Caryophylaceae**

Caractere macroscopice: tulpini repente lungi de cca 30 cm, ramificate, glabre sau slab pubescente, formând tufe circulare. Frunzele opuse, mici, lungi de până la 1 cm, eliptice sau lanceolate. Florile mici, sesile, verzui, dispuse în glomerule la axila frunzelor, caliciul din 5 sepale libere, glabre, petalele mai scurte decât sepalele, androceul din 5 stamine libere.

Produsul vegetal are culoare verde-deschis, miros caracteristic.

HIPPOCASTANI CORTEX – scoarță de castan
Planta producătoare: ***Aesculus hippocastanum*** L. – castan
Fam. **Hippocastanaceae**

Caractere macroscopice: fragmente de scoarță de diferite dimensiuni, partea interioară de culoare brună, cea exterioară cenușie se transformă în ritidom solzos.

Gust amar, miros caracteristic.

HIPPOCASTANI FLORES – flori de castan

Caractere macroscopice: flori zigomorfe, de culoare albă, pătate cu roșu, reunite în panicule mari compuse, terminale, erecte. Caliciul din 4-5 dinți, corola din 4-5 petale și 7 stamine inegale.

Gust amar, miros plăcut caracteristic.

HIPPOCASTANI FOLIA – frunze de castan

Caractere macroscopice: frunze lung pețiolate, palmat-compuse, din 5-7 foliole obovate, cu marginea neregulat crenat-serată, lungimea de cca 20 cm și lățimea de 8-10 cm. Foliola mijlocie mai mare, cele laterale cu mult mai mici. Foliolele pe epiderma superioară glabre, pe cea inferioară tomentoasă, mai ales în lungul nervurilor.

Gustul amar, mirosul caracteristic.

HIPPOCASTANI SEMINA – semințe de castan

Caractere macroscopice: semințe mari, sferice sau ovoidale, lucioase, netede, dense, cu o pată albicioasă (sau galbenă) corespunzătoare micropilului, și două cotiledoane. Diametrul între 2 cm și 4 cm, culoarea brun-roșcată la exterior și alb-gălbuie la interior.

Nu prezintă miros, iar gustul este amar, iritant.

ORTHOSIPHONIS FOLIA – frunze de ortosifon
Planta producătoare: ***Orthosiphon stamineus*** Benth. – ortosifon
Fam. **Lamiaceae**

Caractere macroscopice: vârfuri de tulpini și ramuri de 2-3 cm lungime, cu mugure terminal la vârf și 2-3 perechi de frunze. Tulpini tetramuchiate, purpurii-violete

sau verzui-violete, ușor pubescente. Frunzele scurt pețiolate, opuse, romboidal-eliptice sau alungit ovale, cu vârful plelung acut, cu baza cuneată, vârful serat, baza – cu marginea întreagă. Lungimea frunzelor 2-5 cm, lățimea 1,5-2,5 cm. Nervura principală purpuriu-violetă.

Gustul – ușor astringent, amărui, mirosul slab.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 62)*. Celulele epidermei superioare mari, ușor sinuoase, ale celei inferioare mici, puternic sinuoase. Stomatele de pe fața superioară – rare, pe cea inferioară – numeroase, dispuse, de regulă, între două celule ale epidermei, ale căror pereți învecinați sunt perpendiculari osteolei. Se întâlnesc stomate înconjurate de 3-4 celule. Caracteristice sunt glandele eterouleioase, perii tectori și glandulari. Glandele eterouleioase au piciorușul monocelular foarte scurt și o glandă sferică sau oval-tetragonală destul de mare, din 4 celule, mai rar din 8, iar conținutul lor se colorează cu sudan III în roșu-portocaliu. Sunt dispuse pe ambele părți ale frunzei (pe partea inferioară mai multe), mai numeroase fiind pe frunzulițele tinere. Pe ambele părți ale frunzei sunt numeroși peri glandulari, cu un picioruș monocelular scurt și o glandă sferică, ovală uni- sau bicelulară, cu un conținut ce se colorează cu sudan III. Perii tectori sunt uni- și pluricelari, verucoși, cei unicelulari – rari, conici.

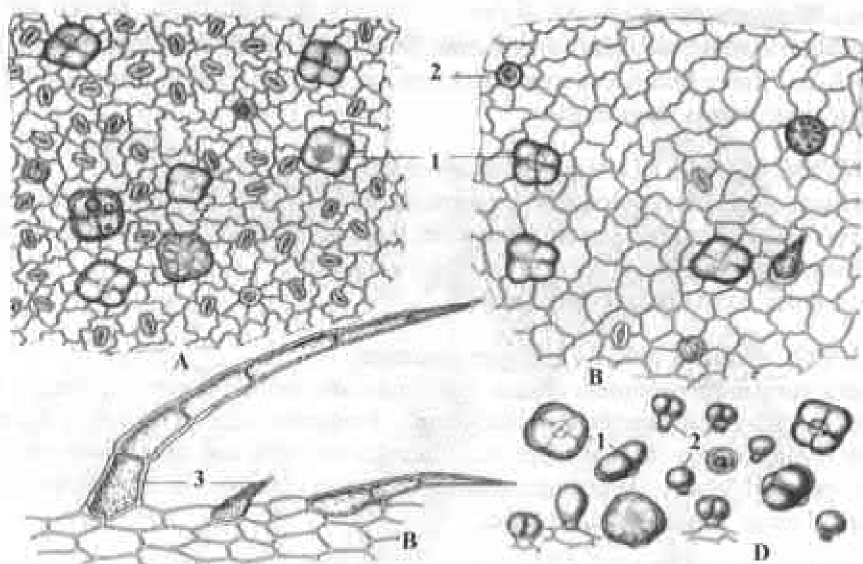


***Fig. 62.* Preparat superficial din frunza de ortosifon (X280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *C* – epiderma de pe marginea frunzei; *D* – peri glandulari. *1* – glande; *2* – peri glandulari; *3* – peri tectori

PRIMULAE FOLIA – frunze de ciubotica-cucului

Planta producătoare: ***Primula veris*** L. (syn. ***Primula officinalis*** (L.) Hill.) și ***P. elatior*** (L.) Grufb. – ciubotica-cucului

Fam. **Primulaceae**

Caractere macroscopice: frunze ovate sau alungit-ovate, cu lungimea de 5-8 cm; vârful teșit și baza îngustată într-un pețiol înaripat; pe margine neregulat-crenate, zbârcite, cu nervuri proeminente pe partea inferioară, pubescente. Culoarea verde sau verde-deschis.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 63)*. Epiderma superioară din celule mari cu conturul slab sinuos, des, cu îngroşări moniliforme ale membranelor, mai ales în jurul locului de fixare al perilor şi pe nervuri. Celulele epidermei inferioare cu un contur puternic sinuos. Cuticula, în locul de fixare al perilor, cutată. Stomatele ovale sau rotunde, puţin proeminente deasupra epidermei. Frunza de ambele părţi este acoperită cu peri de două tipuri, majoritatea cu o glandă ovală unicelulară pe piciorus lung pluricelular (2-5 celule), lăţit la bază. Mai rar se întâlnesc peri cu glanda sferică pe piciorus scurt unicelular. Glanda perişorilor pluricelulari este plină, de obicei, cu o masă granuloasă cenuşie-cafenie. Mezofilul frunzei spongios cu laticifere mari. Pentru ciuboţica-cucului este caracteristic faptul că la tratarea frunzei cu o soluţie alcalină, conţinutul celulelor epidermei se colorează pe alocuri în cafeniu şi este dispus în celulă în straturi, repetând conturul celulei.

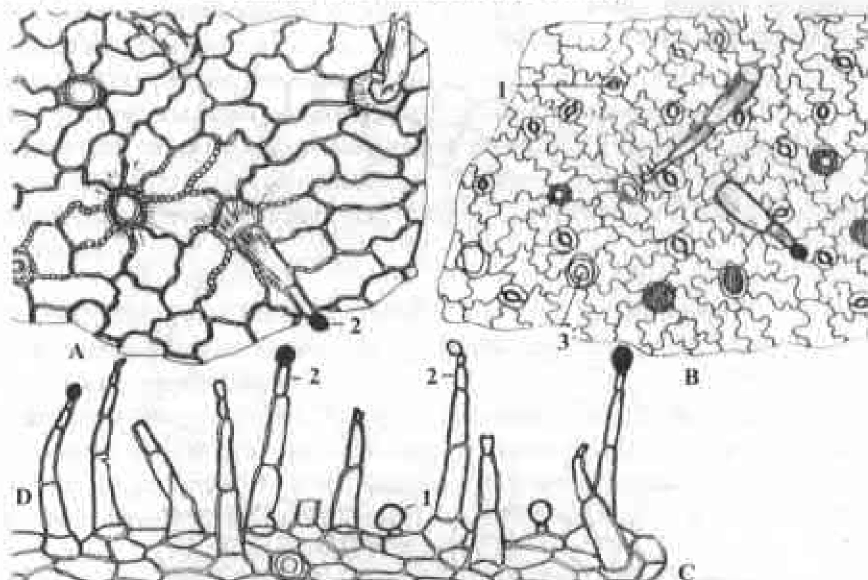


***Fig. 63.* Preparat superficial din frunza de ciuboţica-cucului (X280):**
A – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *C* – epiderma de pe nervură;
D – păr glandular. *1* – păr pe piciorus monocelular; *2* – păr pe piciorus multicelular;
3 – locul fixării perişorului

PRIMULAE RHIZOMATA CUM RADICIBUS – rizomi cu rădăcini de ciuboţica-cucului

Caractere macroscopice: rizomi scurţi, cilindrici, drepţi sau recurbaţi, cu suprafaţa neregulată cu cicatrice ale tulpinilor şi frunzelor. Sunt însoţite de rădăcini cilindrice, recurbate şi ramificate la vârf. Rizomii lungi de 2-10 cm şi cu un diametru de 5 cm. Culoarea la exterior alb-gălbuie *(P. officinalis)* sau brun-roşcată *(P. elatior)*, la interior alb-gălbuie.

Mirosul aromat *(P. officinalis)* sau de salicilat de metil *(P. elatior)*. Gustul iritant.

Caractere microscopice: pe secţiunea transversală prin rizom se distinge un parenchim cortical delimitat la exterior de epidermă, iar la interior de endodermă şi periciclu pluristratificat. Fasciculele libero-lemnoase, în număr de 12-20, sunt dispuse pe

un cerc, limitat la interior de măduvă. Rădăcinile prezintă o structură primară, cu 6-8 fascicule libero-lemnoase.

POLEMONII RHIZOMATA CUM RADICIBUS – rizomi cu rădăcini de scara-domnului

Planta producătoare: ***Polemonium coeruleum*** L. – scara-domnului

Fam. **Polemoniaceae**

Caractere macroscopice: rizomi cu numeroase rădăcini subțiri. Rizomul este orizontal, drept sau puțin încovoiat, 2-3 cm lungime și 0,3-1,5 cm în diametru. Suprafața brună-deschisă, nedreaptă; fractura albă sau puțin gălbuie, scabră; în centru deseori măduva este distrusă. De la rizom pornesc numeroase rădăcini adventive, subțiri (1-1,5 mm în diametru), lungi (10-15 cm), foarte fragile. Culoarea rădăcinilor cenușie-gălbuie, aproape albă, în fractură – albă.

Gustul amărui, mirosul foarte slab.

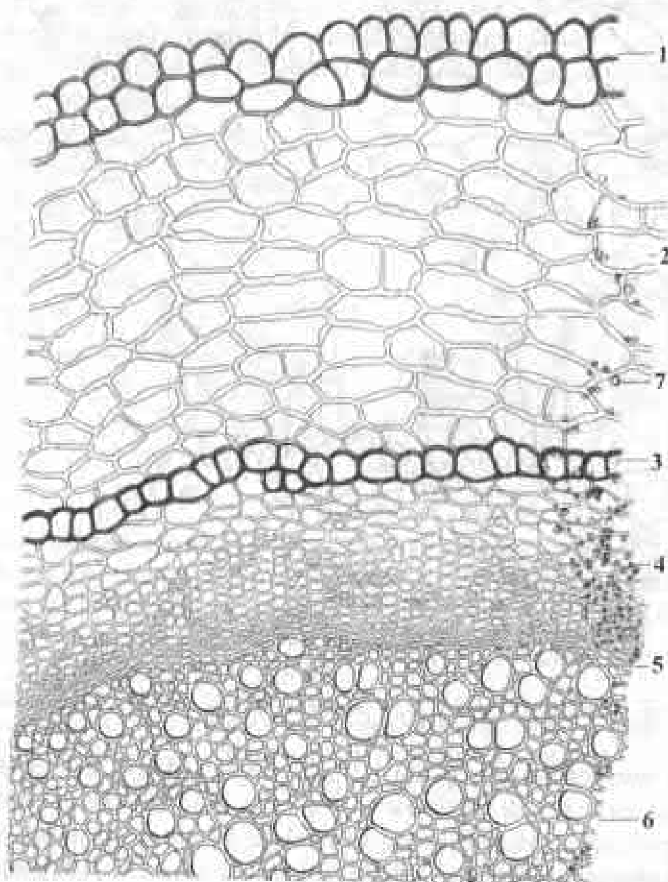


Fig. 64. **Secțiune transversală prin rădăcina de scara-domnului (x280):** *1* – rizodermă; *2* – scoarță primară; *3* – endodermă; *4* – liber; *5* – cambiu; *6* – lemn; *7* – picături de ulei gras

Caractere microscopice: secțiune transversală prin rădăcină *(fig. 64)*. Rădăcinile sunt foarte subțiri, iar structura secundară nu are expresie clară. Țesutul protector prezintă o rizodermă bistratificată (mai rar unistratificată) din celule rotunde cu membrane

foarte subțiri, suberinizate. Scoarța primară consistentă, fără spații intercelulare, din celule mari, tangențial întinse, cu membrane neuniform îngroșate. Endoderma este clar evidențiată, membrane celulelor colorându-se cu sudan III în roșu-portocaliu. Scoarța secundară, mai îngustă decât cea primară, se compune din celule foarte mărunte – elemente conducătoare ale liberului și celule mai mari ale parenchimului liberian. Inelul cambiului este foarte îngust, abia vizibil. Lemnul – fără structura radială. Parenchimul scoarței și al lemnului sărac în granule mici de amidon și ulei gras (colorația cu sudan III).

SAPONARIAE ALBAE RADICES – rădăcini de ipcărige

Planta producătoare: ***Gypsophila paniculata*** L. – ipcărige (ciulin-alb, floarea-miresei)

Fam. **Caryophylaceae**

Caractere macroscopice: produs din bucăți mari din tulpini cilindrice, drepte sau ramificate, cu cicatrice. Fractura netedă. Lungimea 8-15 cm, diametrul 1-4 cm. Culoarea galben-cafenie, la exterior, și albă-gălbuie, în interior. Gustul la început dulceag-mucilaginos, apoi amărui, iritant. Pulberea produce strănut.

Caractere microscopice: secțiunea transversală prezintă o structură secundară imprimată de razele medulare ondulate ce se lărgesc spre parenchimul cortical, delimitând fasciculele libero-lemnoase. Parenchimul cortical conține druze de oxalat de calciu și amidon.

SAPONARIAE RUBRAE RADICES – rădăcini de săpunăriță

Planta producătoare: ***Saponaria officinalis*** L. – săpunăriță

Fam. **Caryophylaceae**

Caractere macroscopice: bucăți cilindrice de rizomi, rădăcini și stoloni care se recunosc după nodozitățile circulare, având 2 muguri opuși. Fragmentele de rădăcini sunt striate longitudinal, 3-20 cm lungime și 6 cm grosime. La exterior prezintă o culoare brun-roșiatică, iar la interior albă. Gustul dulceag-mucilaginos, apoi amărui, iritant.

Mirosul nespecific, iar pulberea mirosită sau inhalată produce strănut.

Caractere microscopice: secțiunea transversală prin rădăcină prezintă un suber de culoare brună sub care se găsește un parenchim cortical, bogat în druze mari de oxalat de calciu și lipsit de amidon. Zona lemnoasă din parenchim celulozic nesclerificat în care sunt dispuse dezordonat vasele de lemn.

3.7.2. Analiza chimică

Proprietăți fizico-chimice. Proprietățile fizico-chimice ale saponozidelor depind de structura sapogeninelor și a componentelor glucidice. Saponozidele sunt substanțe amorfe. În stare cristalizată au fost obținuți numai reprezentanții care au în structura lor până la 4 monoze.

Saponozidele posedă o activitate superficială puternică datorită prezenței în moleculă a radicalilor hidrofili și a celor hidrofobi. Optic sunt active. De regulă, heterozidele triterpenice sunt insolubile în cloroform, acetonă, eter de petrol și solubile în alcoolul etilic și metilic. Solubilitatea saponozidelor în apă este determinată, în primul rând, de numărul monozelor și se mărește cu creșterea numărului lor. Heterozidele cu 1-4 rămășițe de monoze sunt slab solubile în apă. Adăugarea eterului etilic sau a ace-

tonei la soluţiile alcoolice ale saponinelor provoacă sedimentarea lor şi se foloseşte ca metodă de purificare. Dintre soluţiile apoase, diferite grupe de heterozide triterpenice se pot sedimenta cu diferite săruri de plumb şi hidroxid de bariu.

O proprietate chimică a saponozidelor triterpenice este formarea complexelor cu fenolii, alcoolii superiori şi sterinele. Complexul heterozidelor cu sterinele se descompune la încălzire în xilol ori piridină. Această proprietate se foloseşte uneori pentru izolarea saponozidelor din extractele plantelor.

Saponozidele triterpenice pot fi neutre şi acide, fapt condiţionat de grupa carboxilică în aglicon sau de prezenţa acizilor urici în catena glucidică.

Toate saponozidele sunt instabile faţă de agenţii acizi, sub acţiunea cărora se desfac legăturile heterozidice. Saponozidele cu legături O-acilglicozidice sunt instabile la acţiunea bazelor.

Metode de izolare. Izolarea saponozidelor din produsul vegetal include următoarele etape:
- *obţinerea extractului;*
- *izolarea saponozidelor şi purificarea lor de substanţele asociate;*
- *separarea saponozidelor în heterozide individuale.*

Extractul sumar pentru separarea saponozidelor se obţine prin prelucrarea produsului vegetal cu solvenţi polari: alcool metilic sau etilic şi apă. Produsul vegetal în prealabil se tratează cu eter de petrol sau tetraclorură de carbon, pentru a descompune complexele saponozidelor cu sterinele.

Metodele de izolare a saponozidelor din extract depind de structura acestora. Heterozidele cu un număr nu prea mare de monoze (3-4) sunt slab solubile în apă şi se sedimentează la diluarea soluţiilor alcoolice cu apă. Saponozidele polare sunt slab solubile în alcoolul metilic şi etilic şi se sedimentează la răcirea sau păstrarea îndelungată a soluţiilor alcoolice, ori la adăugarea alcoolului în soluţiile apoase şi apoase-alcoolice. Saponozidele acide sunt solubile în soluţii apoase de bază şi se sedimentează la acidulare. Din soluţiile alcoolice saponozidele triterpenice se precipită cu eter etilic, acetonă, acetat de etil, iar unele – cu alcool butilic şi izoamilic. Din soluţiile apoase impurităţile asociate slab polare se extrag cu eter etilic, cloroform, tetraclorură de carbon, iar heterozidele triterpenice – cu alcool butilic ori izoamilic.

Fracţiile de saponozide obţinute se purifică prin precipitare repetată, ceea ce nu duce la purificare completă de substanţe asociate: impurităţi anorganice, mono- şi oligozide, heterozide din alte clase, acizi organici. Un şir de metode sunt bazate pe proprietatea saponozidelor de a forma săruri insolubile în apă sau alcool apos cu hidroxid de bariu sau acetat de plumb şi complexe cu colesterolul, taninurile, albuminele. Sărurile se descompun cu acid carbonic sau sulfuric; complexele colesterolului – prin extragerea colesterolului cu benzen, toluen, eter etilic sau piridină. Metoda oferă posibilitatea de a obţine un total de saponozide mai pur, dar nu constituie o metodă generală şi nu asigură izolarea totală a saponozidelor.

Saponozidele, care formează soluţii coloidale, se purifică de impurităţi (monozaharide, substanţe minerale) cu ajutorul dializei şi electrolizei. Sunt răspândite şi metodele cromatografice de purificare a sumei saponozidelor. Heterozide, care conţin grupe carboxile, pot fi separate de substanţe asociate, inclusiv de impurităţi minerale, cu ajutorul cromatografiei cu schimb de ioni. Purificarea cromatografică a sumei saponozidelor se realizează cu oxid de aluminiu, silicagel, cărbune activat.

Determinarea calitativă

Saponozidele se identifică în produsul vegetal prin reacţii bazate pe proprietăţile lor: *fizice, chimice şi biologice.*

Din *prima grupă* face parte reacţia de formare a spumei. Este o probă specifică saponozidelor, deoarece alte substanţe, cu capacitatea de a forma spumă, în plante nu se întâlnesc.

La *grupa a doua* se referă reacţiile de precipitare a saponozidelor şi reacţiile de culoare. Din soluţiile apoase saponozidele se precipită cu hidroxid de bariu şi magneziu, cu sărurile cuprului şi acetat de plumb. Totodată, saponozidele triterpenice se precipită cu acetat de plumb neutru, iar cele steroidice – cu acetat de plumb bazic. Din extracţiile sau soluţiile alcoolice, saponozidele steroidice şi triterpenice se precipită la adăugarea soluţiei alcoolice de colesterol sub formă de colesteride.

Pentru saponozidele steroidice, ca şi pentru heterozidele cardiotonice, este pozitivă reacţia *Liebermann-Bourchard* (derivaţi ai ciclotentanperhidrofenantrenei).

Proprietăţile biologice ale saponinelor determină hemoliza eritrocitelor. Pentru efectuarea acestei reacţii, din produsul vegetal se prepară infuzia în soluţie izotonică. Având în vedere că multe dintre reacţiile chimice sunt caracteristice şi pentru alţi compuşi, proba biologică (hemoliza eritrocitelor) este specifică saponozidelor.

Extragerea saponozidelor din produsul vegetal. Pentru identificarea saponozidelor se pregăteşte o infuzie 1:10, încălzind produsul vegetal mărunţit la baia de apă timp de 10 min. După răcire, infuzia se filtrează şi se utilizează în reacţiile de identificare.

Identificarea saponozidelor

Reacţia de formare a spumei: se iau două eprubete, în una se adaugă 5 ml soluţie de HCl 0,1 N, iar în a doua 5 ml NaOH 0,1 N. În ambele eprubete se adaugă câte 2-3 picături de extract sau soluţie de saponine şi se agită energic. La prezenţa în produsul vegetal a saponinelor triterpenice în ambele eprubete se formează spumă egală după volum şi stabilitate. Dacă produsul vegetal conţine saponine steroidice, atunci în mediul bazic se formează spumă de câteva ori mai multă după volum şi mai stabilă.

Reacţia cu acetat de plumb. La 2 ml de extract se adaugă câteva picături de acetat de plumb. Se formează precipitat.

Reacţia cu colesterol. La 1 ml de soluţie alcoolică de saponine se adaugă câteva picături de soluţie alcoolică de colesterol 1 %. Se formează precipitat.

Reacţia Liebermann-Bourchard. Pentru efectuarea acestei reacţii substanţa de analizat se dizolvă în acid acetic glacial şi se adaugă amestec de anhidridă acetică şi acid sulfuric concentrat (50:1). Peste un timp culoarea trece de la roz la verde şi albastru.

Reacţia Lafon. La 2 ml de infuzie se adaugă 1 ml de acid sulfuric concentrat, 1 ml de alcool etilic şi o picătură soluţie sulfat de fier 10 %. La încălzire apare o culoare albastră-verzuie.

Reacţia cu nitrat de sodiu. La 2 ml infuzie se adaugă 1 ml soluţie de nitrat de sodiu şi o picătură de acid sulfuric concentrat. Apare o culoare roşie-sângerie.

Hemoliza eritrocitelor. O suspensie de globule roşii, obţinută din 2 ml sânge defibrinat şi 98 ml ser fiziologic, se prezintă ca un lichid roşu-tulbure, netransparent, în repaos se depune un sediment de globule roşii. Când se amestecă volume egale de astfel de suspensie cu un decoct din plante cu saponine preparat după tehnica de la proba de

spumificare, soluția trebuie să devină limpede, transparentă, de culoare roșie-intens, iar în repaos să nu se mai depună sediment roșu de hematii.

Mecanismul hemolizei este de natură coloid-osmotică. Hematiile se umflă ca urmare a diferenței de presiune osmotică, apoi se sparg, punând în libertate hemoglobina sau, mai probabil, se formează complecși între saponină și proteinele eritrocitare din membrana hematiilor.

Proba câmpului hemolitic

Determinarea prezenței saponinelor se mai poate face microscopic, utilizând secțiuni sau mici fragmente de produs vegetal, incluse într-un preparat obținut din sânge defibrinat de 4 %, dispersat într-o soluție de gelatină.

Saponina, prezentă în produs, difuzează în amestecul de gelatină-sânge, hemolizează globulele roșii și determină apariția unei zone limpezi, transparente, numită câmp hemolitic.

Proba câmpului hemolitic poate fi executată și cu bucăți de hârtie de filtru, îmbibate cu decoct din planta cu saponine. La introducerea acestora în preparatul de gelatină-sânge se poate evidenția hemoliza.

În afară de saponine, hemoliza mai poate fi produsă și de alte substanțe precum: uleiuri volatile, grăsimi râncede, săpunuri etc. Pentru a verifica dacă hemoliza a fost produsă de saponine sau de alte subsanțe hemolizante, secțiunile se fierb timp de o oră într-o soluție alcoolică de colesterol de 1 % pentru a bloca saponina sub forma unui complex insolubil. Fiind introduse în preparatul de gelatină-sânge, acestea nu trebuie să mai producă hemoliza. În cazul în care câmpul hemolitic totuși apare, hemoliza ar fi produsă de alte substanțe. Secțiunile, care după fierbere cu colesterol nu au produs hemoliza, se fierb timp de 2 ore în xilen, pentru a pune saponina din nou în libertate și a produce un nou câmp hemolitic.

Cromatografia în strat subțire. Spre deosebire de alte clase de compuși naturali (aminoacizi, glucide), pentru saponozide nu există un sistem general de eluare. Pentru saponozidele neutre cele mai convenabile sisteme sunt: alcool butilic-alcool etilic–apă; alcool butilic–acid acetic–apă (în diferite proporții, stratul superior); cloroform–alcool metilic–apă (65:35:10).

Pentru developarea cromatogramelor se pot folosi aceiași reactivi ca și la efectuarea reacțiilor chimice. Astfel, pentru identificarea saponozidelor steroidice cromatograma se developează cu soluție alcoolică de $SbCl_3$ de 1 %, iar după uscare cu H_2SO_4 și anhidridă acetică formează spoturi portocalii.

Pentru identificarea saponozidelor triterpenice se utilizează soluția de H_2SO_4 20 %. După prelucrare, cromatograma se menține în dulapul de uscare la 115-120 °C timp de 15 min. Se formează spoturi violete. Cromatograma se prelucrează cu soluție cloroformică saturată de $SbCl_3$ cu urme de $SbCl_5$, care cu saponozidele triterpenice dă o culoare roz-violet.

Analiza cromatografică a unor saponine din produsele vegetale

Soluția de analizat: 2 g produs vegetal se extrag cu 10 ml de etanol 70 % timp de 10 minute, la reflux. Filtratul se concentrează până la 5 ml.

Soluții etalon: soluții metanolice 1 % de acid primulic, escină, saponină *Merck* (saponină din *Saponariae albae radices*).

Faza staționară: silicagel G.

Faze mobile:

- n-butanol:acid acetic:apă (6:1:3).
- cloroform: acid acetic glacial: metanol:apă (60:32:12:8).

Revelare: prin pulverizare cu:

- reactiv *Liebermann-Bourchard*, apoi încălzire la 110 °C, 5 minute.
- reactiv anisaldehidă, urmată de încălzire la 110 °C, 5 minute.

Rezultate:

- după pulverizare cu reactiv *Liebermann-Bourchard*: acid primulic (Rf = 0,25) – spot violet, escină (Rf = 0,70) – spot brun-violet, saponină *Merck* (Rf = 0,20) – spot brun.
- după pulverizare cu reactiv anisaldehidă: acid primulic (Rf = 0,25) – spot roșu-violet, escină (Rf = 0,45) – spot albastru-violet, saponină Merck (Rf = 0,20) – spot violet.

Identificarea cromatografică a aralozidelor în *Araliae mandshuricae radices.* 10 g rădăcini de aralie mărunțite (eroare admisibilă – 0,01 g), trecute prin sita cu diametrul orificiilor de 1 mm, se introduc într-un balon cu șlif cu capacitatea de 500 ml. Se adaugă 50 ml cloroform și se încălzește 1,5 ore la baia de apă cu refrigerent ascendent (temperatura băii 60 °C). Extractul cloroformic se filtrează prin vată și filtratul se înlătură. Vata cu precipitat se trece în balonul cu produs vegetal, se adaugă 50 ml de cloroform și se încălzește timp de 1,5 ore. Extractul cloroformic se filtrează prin pâlnia *Buhner* folosind hârtie de filtru. Produsul vegetal și filtrul se trec în capsula de porțelan și se lasă pe 24 de ore. După aceasta produsul se trece în balon și se adaugă 100 ml de alcool metilic. Balonul se cântărește, se încălzește pe baia de apă cu refrigerent ascendent și se continuă fierberea timp de 5 ore (se fierbe cu capilare, temperatura băii – 80 °C), după răcire balonul cu produs din nou se cântărește, se determină pierderea din masă, se echilibrează cu alcool metilic, apoi se amestecă și se filtrează prin hârtia de filtru (soluția 1). 1 ml de soluție se diluează cu 2 porții de alcool metilic – se obține soluția 2. 0,02 ml de soluție 2 se aplică cu micropipeta pe linia de start a plăcii cromatografice cu dimensiunile de 13x18 cm cu strat subțire de silicagel. În paralel, pe linia de start a plăcii, în calitate de martor, se aplică 0,01 ml de soluție de saparal 0,5 % în alcool metilic.

Placa se usucă 10 min, apoi se introduce în camera cromatografică cu amestecul de solvenți: cloroform anhidru–alcool metilic–apă (61:32:7) și se cromatografiază la temperatura de 20-25 °C. Când nivelul amestecului de solvenți a trecut de 15 cm, placa se scoate din cameră și cât e umedă se pulverizează cu soluție de H_2SO_4 20 %, apoi se încălzește 10 min în dulapul de uscare la 110 °C. Aralozidele se developează sub formă de spoturi de culoare vișinie. Se admite prezența altor pete, până la 6 substanțe de natură neidentificată: 5 spoturi mai sus de cel al aralozidei A și unul mai jos.

La determinarea structurii saponozidelor, pe lângă metodele tradiționale (analiza elementară, determinarea masei moleculare), se aplică pe larg și metodele spectroscopice UV, IR și RPM.

Spectroscopia IR servește pentru identificarea saponozidelor triterpenice și examinarea legăturilor duble, grupelor hidroxile, grupărilor O-acile, grupelor carbonile, carboxile. După fâșiile caracteristice de absorbție ale grupelor CH_3 în regiunea 1245-1392 cm^{-1}, triterpenele tetraciclice se deosebesc de cele pentaciclice ale α- și β-amirenolului.

Clasificarea strictă a saponozidelor steroidice poate fi făcută pe baza spectrelor IR şi a geninelor lor: prezenţa fâşiilor de absorbţie la 852 (866), 900 (900), 922 (922), 987 (982) cm^{-1} (grupările spirocetalice din şirul normal şi izo-) permite univoc a clasifica saponozidele la grupul steroidelor.

În ultimul timp, la studierea structurii triterpenelor pentaciclice se aplică masspectrometria şi metodele spectroscopiei RPM.

Studierea sistematică a dispersiei optice a oxiderivaţilor triterpenelor pentaciclice dă posibilitate de a rezolva problemele legate de demonstrarea structurii şi stereochimiei lor (stabilirea poziţiei grupelor carbonice şi hidroxile după trecerea în carbonile, poziţia legăturii duble, configuraţia unor centre asimetrice).

Stabilirea structurii grupării glucidice a saponozidelor triterpenice şi steroidice se realizează cu ajutorul metodelor chimiei structurale a oligo- şi polizaharidelor. Aici intră: identificarea şi dozarea monozaharidelor; determinarea succesivă a radicalilor monozaharidici în lanţul glucidic; determinarea poziţiei legăturilor heterozidice în radicali monozelor; determinarea dimensiunilor ciclurilor oxidice ale monozaharidelor; determinarea configuraţiei centrelor heterozidice.

Determinarea cantitativă

Pentru dozarea saponozidelor în produsul vegetal se aplică metode bazate pe proprietăţi chimice, biologice (determinarea indicelui de hemoliză) şi fizice (determinarea indicelui de saponificare).

Metodele de determinare cantitativă a saponozidelor, bazate pe proprietăţile biologice şi fizice ale lor, ca şi determinarea acţiunii toxice a saponozidelor, dau rezultate care nu se pot compara, fiindcă aceste proprietăţi nu depind unele de altele. Determinând una dintre ele, nu se poate judeca despre gradul de manifestare a alteia. Nici una dintre metodele enumerate nu este bazată pe determinarea conţinutului absolut al saponozidelor în produsul vegetal.

Metodele de determinare a saponozidelor, bazate pe evaluarea toxicităţii sporite a acestor compuşi pentru animalele cu sânge rece (peşti, mormoloci, broaşte, viermi), nu au avantaje în comparaţie cu indicele de hemoliză prezentând aceleaşi neajunsuri – siguranţa mică, imposibilitatea clasificării stricte a substanţelor de analizat la saponozide.

Metode chimice generale de determinare a saponozidelor în produsul vegetal nu există: aplicabile, pentru unele saponozide, nu sunt autentice pentru altele. Se utilizează metode gravimetrice şi fotometrice, de analiză colorimetrică şi spectrofotometrică. La elaborarea metodelor noi de determinare cantitativă a saponozidelor mai întâi de toate se i-a în considerare structura lor chimică.

Dozarea saponozidelor prin indicele de hemoliză este bazată pe ipoteza ca acţiunea hemolitică este direct proporţională cantităţii de saponină în soluţie.

Indicele hemolitic reprezintă concentraţia minimă a unei soluţii de saponozide care poate să producă hemoliza totală a unui volum egal de suspensie de hematii de 2 %.

Tehnica de lucru: se iau 1-2 g produs vegetal pulverizat (V), exact cântărit, se pun într-un balon şi se adaugă 100 g ser fiziologic fierbinte şi balonul se cântăreşte. Se menţine pe baia de apă în fierbere 30 minute, după care se completează cu apă până la greutatea iniţială şi se filtrează. Din filtrat, cu o pipetă gradată, se iau într-o serie de eprubete volume descrescânde începând cu 1; 0,9; 0,8 ml etc. Lichidul din fiecare eprubetă se completează până la 1 ml cu ser fiziologic. Apoi în fiecare eprubetă se adaugă câte 1 ml suspensie 2 % globule roşii în ser fiziologic (*tab. 7*). Conţinutul

eprubetelor se amestecă prin înclinarea repetată a stativului cu eprubete, evitând agitarea cu formare de spumă, după care se lasă în repaos.

Tabelul 7

Determinarea indicelui hemolitic

Numărul eprubetei	Soluție extractivă	Ser fiziologic	Suspensie de globule roșii (ml)
1	1,0	–	1,0
2	0,9	0,1	1,0
3	0,8	0,2	1,0
4	0,7	0,3	1,0
5	0,6	0,4	1,0
6	0,5	0,5	1,0
7	0,4	0,6	1,0
8	0,3	0,7	1,0
9	0,2	0,8	1,0
10	0,1	0,9	1,0

După 20-24 de ore se controlează și se observă prima eprubetă care conține o soluție de culoare roșie, complet transparentă și fără nici un sediment, adică în care s-a produs hemoliza totală.

Calculul indicelui hemolitic se face după formula:

$$X = 2 \times 100/a \times b,$$

în care: *a* – concentrația inițială a decoctului obținut din produsul vegetal; *b* – cantitatea de soluție extractivă din eprubetă, cu concentrație minimă de saponozide, în care s-a produs hemoliza totală (ml).

În cazul în care în toate eprubetele s-a produs hemoliza totală, soluția inițială se diluează de zece ori și se repetă experiența, luându-se în calcul valoarea corespunzătoare diluției.

Având în vedere că diferite saponozide în aceeași concentrație au indice de hemoliză variat și mecanismul hemolizei e diferit, pentru fiecare produs vegetal se utilizează standardul său – soluția de saponină pură.

Este propusă și metoda modificată de determinare a indicelui de hemoliză, care constă în măsurarea diametrului spotului de hemoliză format la atingerea cercului hârtiei de filtru, muiat în soluție de saponine, cu suspensia gelatinoasă de eritrocite. Rezultatul pozitiv al probei hemolitice nu indică la prezența saponinelor, fiindcă și alte substanțe de origine vegetală (unele uleiuri volatile, acizi, alcooli) provoacă hemoliză. Siguranța probei crește, dacă hemoliza se blochează prin adăugarea colesterolului, și se restabilește după descompunerea complexului format. Unele saponozide (hederina, acizii primulici) nu formează colesteride. Saponozidele se pot afla în plante și sub formă de complex cu sterolii, cu condiția să nu posede activitate hemolitică până la descompunerea acestui complex.

Determinarea indicelui de spumificare

Indicele de spumificare este un parametru prin care se pot caracteriza produsele vegetale cu saponine și se bazează pe proprietatea acestora de a forma în soluție apoasă o spumă persistentă.

Tehnica de lucru: într-un balon *Erlenmayer* de 500 ml, conținând 100 ml de apă clocotită, se introduce 1,0000 g de produs vegetal pulverizat și se fierbe moderat timp de 10-15 minute. Se filtrează și după răcire se completează până la 100 ml cu apele de spălare a reziduului vegetal (soluția A). Într-o serie de 10 eprubete, numerotate de la 1 la 10, cu diametre egale și înălțimea de 16 cm, se iau soluție extractivă și apă conform tabelului 8. După diluarea soluției extractive cu apă, eprubetele se acoperă și se agită vertical timp de 30 secunde. După un repaus de 15 minute se măsoară înălțimea coloanei de spumă. Pentru eprubeta, în care înălțimea coloanei este de 1 cm, se calculează indicele de spumificare împărțind volumul total (10 ml) la cantitatea de produs vegetal corespunzătoare probei.

Tabelul 8

Determinarea indicelui de spumificare

Numărul eprubetei	Volumul soluției extractive (ml)	Cantitatea de PV corespunzătoare volumului soluției (g)	Volumul apei (ml)	Volumul total (ml)
1	1	0,01	9	10
2	2	0,02	8	10
3	3	0,03	7	10
4	4	0,04	6	10
5	5	0,05	5	10
6	6	0,06	4	10
7	7	0,07	3	10
8	8	0,08	2	10
9	9	0,09	1	10
10	10	0,10	0	10

Exemplu. Dacă în eprubeta nr. 2 (cu 2 ml de soluție extractivă care corespunde la 0,02 g de produs vegetal), coloana de spumă are înălțimea de 1 cm, indicele de spumificare este 10 : 0,02 = 500.

Când înălțimea coloanei de spumă din eprubeta nr. 1 depășește 1 cm, indicele de spumificare este mai mare decât 1000, iar când este mai mică de 1 cm în eprubeta nr. 10, indicele de spumificare este sub 100.

Dozarea acidului glicirizinic în *Glycyrrhizae radices*. Metoda este bazată de precipitarea acidului glicirizinic din extracția acetonică cu soluție de amoniac 25 % și determinarea spectrofotometrică ulterioară. 2 g de produs vegetal mărunțit, trecut prin sita cu diametrul orificiilor de 2 mm (probă exactă), se introduc în balonul cu șlif normal cu capacitatea de 150 ml, se adaugă 20 ml soluție acetonică de HNO_3 și se extrage timp de 1 oră, agitând balonul permanent și energic. Extractul se filtrează într-un cilindru cu capacitatea de 100 ml. Pulberea de rădăcină rămasă în balon se spală cu 10 ml acetonă și se filtrează prin același filtru. În balonul cu produs vegetal se mai adaugă 20 ml de acetonă, cu care se spală și pulberea de pe filtru, se unește cu refrigerentul ascendent și amestecul se fierbe 5 min pe baia de apă. Extractul se filtrează prin același filtru în același cilindru.

Extragerea cu acetonă fierbinte se repetă de două ori. Pulberea de rădăcină se spală cu acetonă până când volumul lichidului în cilindru va fi de 100 ml. Lichidul din cilindru se toarnă într-un pahar de 200 ml. Cilindrul se spală cu 40 ml de alcool etilic, care apoi se toarnă în pahar. În continuare, agitând intens, se adaugă câte o picătură soluție concentrată de amoniac până la apariția precipitatului abundent de culoare galben-deschis (pH 8,3-8,6 se stabilește după înroșirea hârtiei de fenolftaleină). Precipitatul împreună cu lichidul se trec pe filtrul aranjat în pâlnia *Buhner* și lichidul se aspiră. Paharul și filtrul cu precipitat se spală cu 50 ml de acetonă în 3-4 doze. Precipitatul cu filtrul se trec în paharul în care s-a produs sedimentarea și se dizolvă în 50 ml de apă. Soluția obținută cantitativ se trece în balonul cotat de 250 ml. Filtrul se spală de câteva ori cu porțiuni mici de apă, adăugându-se la soluția de bază. Se adaugă apă până când volumul soluției ajunge la semn (soluția A). 30 ml din soluția obținută A se introduc în balonul cotat de 500 ml și se adaugă apă până la cotă (soluția B).

La spectrofotometru cu lungimea de undă 258 nm în cuva cu grosimea stratului optic de 1 cm, se determină densitatea optică a soluției, folosind în calitate de soluție de control apa.

Conținutul procentual al acidului glicirizinic (x) se determină după formula:

$$X = \frac{D \times 822 \times 250 \times 500 \times 100}{m \times V \times 1000 \times 11000},$$

în care: *D* – densitatea optică a soluției B; *m* – masa probei de produs vegetal, g; *V* – volumul soluției A, folosit pentru pregătirea soluției B, ml; *822* – masa moleculară a acidului glicirizinic; *11000* – indicele molar de absorbție.

Conținutul de acid glicirizinic în produsul vegetal trebuie să fie nu mai puțin de 6 %.

Dozarea saponozidelor în *Dioscoreae nipponicae rhizomata cum radicibus.* Din proba analitică de produs vegetal, mărunțit și trecut prin sita cu diametrul orificiilor de 10 mm, se iau 20 g și se mărunțesc până la dimensiunile particulelor care trec prin sita cu diametrul orificiilor de 2 mm. 1 g (probă exactă) de produs mărunțit se introduce în balonul cu fund plat de 100 ml, se adaugă cu pipeta 50 ml de alcool etilic 95% și se introduce bagheta de sticlă pentru amestecare. Balonul se cântărește (eroare admisibilă 0,1 g) și se ține pe malaxorul magnetic 1 oră de la începutul fierberii.

Extractul se răcește până la temperatura camerei, pierderea în masă se completează cu alcool etilic 95 %, se agită și 30-40 ml de soluție se filtrează prin filtrul de hârtie. 5 ml de filtrat se trec cu pipeta în balonul gradat cu capacitatea de 50 ml. Volumul soluției se aduce până la cotă cu alcool etilic de 95 %, se agită (soluția A).

5 ml de soluție A se trec cu pipeta în eprubeta de sticlă cu șlif normal și tot aici se adaugă 5 ml de soluție n-dimetilaminbenzaldehidă 1 % în soluție alcoolică de HCl 4 N. Eprubeta se astupă cu dop de sticlă, se agită și se încălzește timp de 2 ore în ultratermostat la temperatura 58±0,5 °C. Soluția se răcește sub un jet de apă până la temperatura camerei și se determină densitatea optică la spectrofotometru la lungimea de undă 518 nm în cuva cu grosimea stratului optic de 1 cm.

În calitate de soluție de comparație se folosește amestecul din 5 ml de soluție A și 5 ml de soluție alcoolică de HCl 4 N, care se menține în ultratermostat la 58±0,5 °C.

Conținutul procentual al heterozidelor furastanolice (x), recalculat la masa absolut uscată, se determină după formula:

$$x = \frac{a \times 0{,}0101 \times 50 \times 10 \times 100 \times 100}{m \times (100 - w) \times K} = \frac{a \times 50 \times 500}{m \times (100 - w) \times K},$$

în care: *a* – cantitatea de clorură de cobalt, determinată după graficul de calibrare, g; *0,0101* – coeficientul de recalculare a concentrației clorurii de cobalt la concentrația heterozidelor furastanolice; *50* – volumul inițial de extracție, ml; *10* – numărul de diluții; *m* – masa probei de produs vegetal, g; *w* – pierderea din masa produsului vegetal la uscare, %; *K* – coeficientul de corecție a titrului acidului.

Dozarea aralozidelor în *Araliae mandschuricae radices*. 10,0 g (eroare admisibilă – 0,01) de rădăcini de aralia mărunțite, trecute prin sita nr. 1, se trec în balonul cu șlif (capacitatea de 500 ml), se adaugă 50 ml cloroform și se încălzește 1,5 ore cu refrigerent ascendent la baia de apă (temperatura băii 60 °C). Extractul cloroformic se filtrează prin vată și filtratul se aruncă. Vata cu precipitat se trece în balonul cu produs vegetal, se adaugă 50 ml de cloroform și se încălzește 1,5 ore. Extractul cloroformic se filtrează prin pâlnia *Buhner* cu hârtie de filtru. Produsul vegetal împreună cu filtru se trece în capsula de porțelan și se lasă 24 de ore. După aceasta, produsul vegetal se trece în balon și se adaugă 100 ml de alcool metilic.

Balonul se cântărește, se încălzește la baia de apă cu refrigerent ascendent timp de 5 ore (se fierbe cu capilare, temperatura băii – 80 °C). După răcire balonul din nou se cântărește, pierderea din masă se completează cu alcool metilic, apoi conținutul se amestecă și se filtrează prin filtru de hârtie.

50 ml filtrat (5 g produs vegetal inițial) se toarnă într-un balon de 100 ml și alcoolul metilic se distilează la baia de apă în vid. Reziduul solventului în balon se înlătură prin suflarea cu aer. Reziduul uscat se dizolvă în 20 ml de amestec: CH_3COOH (glacial) – HCl (concentrat) – H_2O (3,5:1:5,5) și se fierbe 2 ore în balonul cu șlif normal de 100 ml unit cu un refrigerent ascendent la baia de sare (69 g clorură de calciu în 100 ml de apă) la temperatura nu mai mare de 120 °C.

La terminarea hidrolizei, din precipitatul depus se extrag produsele de hidroliză, adăugând de 2 ori câte 20 ml benzen prin refrigerent și agitând balonul. Lichidul se încălzește până la fierbere, apoi soluția fierbinte se trece în pâlnia de separare. După stratificarea lichidului, extractul benzenic se trece într-un balon de 250 ml, iar stratul apos – înapoi în balonul pentru hidroliză. Extragerea se repetă cu benzen, adăugând de 3 ori câte 20 ml, de fiecare dată încălzind lichidul până la fierbere. La amestecul de extract benzenic se adaugă 80 ml de apă și lichidul se încălzește până la fierbere, apoi se toarnă în pâlnia de separare și după stratificarea deplină a lichidului stratul apos se aruncă. Extractul benzenic se spală astfel de acid de 3-4 ori până la reacția neutră după hârtia de indicator universală. Apoi se filtrează în balonul pentru distilare de 250 ml prin hârtia de filtru pe care în prealabil se pun 5 g de Na_2SO_4 proaspăt călit și spălat cu 10 ml de benzen. Pâlnia și filtrul se spală de 3 ori cu câte 20 ml benzen.

Benzenul se distilează în vid la baia de apă până la uscat, se dizolvă în amestecul de solvenți: alcool metilic–cloroform (1:9). Se trece cantitativ în balonul gradat de 25 ml și volumul soluției se aduce cu același amestec de solvenți până la cotă. 10 ml din soluția obținută se trec într-un balon de 100 ml cu fund plat, se adaugă 100 ml de același amestec de solvenți și 5 g de silicagel KSK. Se amestecă prin agitare, apoi cantitativ se trece pe filtrul de sticlă nr. 4 și produsele hidrolizei se extrag complet cu amestecul de solvenți (alcool metilic–cloroform (1:9)) de 10 ori, cu porțiuni a câte 20 ml, apoi se efectuează

proba de plenitudine a extracției. Pentru aceasta, reziduul uscat a câtorva picături de filtrat se dizolvă în 0,2 ml anhidridă acetică și se adaugă 1-2 picături de H_2SO_4 concentrat. Dacă apare colorație zmeurie, atunci silicagelul se mai spală.

Filtratul unit se distilează până la uscat la baia de apă în vid. Reziduul uscat se dizolvă în 30 ml de alcool propilic la încălzire (temperatura băii – 50 °C), cantitativ se trece în paharul pentru titrare și se titrează potențiometric cu NaOH 0,1 N în amestec de benzen și alcool metilic. În calitate de electrod de indicație se folosește electrodul de sticlă, ca electrod de comparație – cel de calomel saturat (în alcool metilic). Paralel se efectuează proba de control: 1 ml soluție de NaOH 0,1 N corespunde la 0,10422 g de săruri amoniacale de aralozide A, B, C (calculat la sarea amoniacală a aralozidelor cu masa moleculară medie). Conținutul procentual (x) al sărurilor amoniacale ale aralozidelor A, B, C se calculează după formula:

$$x = \frac{0{,}10422 \times (V - V_1) \times 50000}{m \times (100 - w)},$$

în care: V – volumul soluției de NaOH 0,1 N, la titrarea probei, ml; V_1 – volumul soluției de NaOH 0,1 N, la titrarea probei de control, ml; m – masa probei de produs vegetal g; w – pierderea din masa produsului vegetal la uscare, %.

Conținutul sărurilor amoniacale ale aralozidelor A, B, C, recalculat la produs vegetal absolut uscat, trebuie să fie cel puțin 4,5 %.

Izolarea și determinarea cantitativă a saponinelor din produsele vegetale prin metoda gravimetrică

Tehnica de lucru: 2 g de produs vegetal pulverizat se degresează prin extracție continuă cu cloroform în aparatul *Soxhlet* până la epuizarea solventului (incolor). După uscare, pulberea se extrage cu metanol 80° la cald, pe baia de apă, timp de 30 minute. Filtratul se concentrează la rotavapor, până la un volum redus, după care se precipită prin turnare în fir subțire, sub agitare continuă, pe acetonă. Saponinele precipitate se filtrează sub vid, se spală cu acetonă, după care se usucă în exsicator. După uscare, pulberea se cântărește, iar rezultatul se exprimă procentual.

3.8. Produse vegetale cu conținut de tioheterozide

Definiție

Tioheterozidele (heterozide sulfurate, senevolheterozide) sunt esteri ai acidului izotiocianic (izotiohidroxamic), care prin hidroliză pun în libertate senevoli (uleiuri sulfurate), cu formula generală R-N=C=S.

3.8.1. Caractere macro- și microscopice

SINAPIS SEMINA – semințe de muștar

Planta producătoare: ***Brassica juncea*** (L.) Czern (syn. *Sinapis juncea* L.) – muștar-negru-creț; ***B. nigra*** Koch. (syn. *Sinapis nigra* Koch.) – muștar-negru

Fam. **Brassicaceae**

Caractere macroscopice: semințele de muștar-negru-creț, cu diametru de 1,2-1,8 mm, sunt de culoare brun-roșiatică cu depuneri albăstrui. Semințele de muștar-negru sunt mai mici (de la 1 până la 1,5 mm în diametru), cafenii-întunecate sau brun-roșiatice. Forma semințelor ambelor specii este sferică sau puțin ovală, suprafața reticulată.

în apă devin mucilaginoase, cu gust caracteristic, fără miros iute. La triturarea în apă caldă se simte miros specific de muștar.

Caractere microscopice: secțiune transversală prin sămânță *(fig. 65)*. Sămânța de muștar constă din tegument seminal și embrion, țesutul nutritiv de rezervă, endospermul, practic lipsește. Pe secțiunea transversală a seminței, sub tegumentul seminal, se văd cotiledoanele în formă de potcoavă și radicula rotunjită a embrionului. Însemnătate diagnostică are tegumentul format din 4 straturi. Primul strat constiuie epiderma, formată din celule mari, incolore, cu conținut de mucilagiu. Al doilea strat constă din celule foarte mari cu pereți subțiri („celule gigante"), care în sămânța uscată se reduce aproape complet, iar la macerare se umflă. Sub el se află un strat scleros, din celule a căror înălțime crește treptat, apoi scade, de aceea pe secțiunea transversală marginea exterioară a acestui strat are caracter ondulat. Acest fapt determină suprafața reticulară a seminței. Celulele stratului scleros sunt îngroșate neuniform – peretele intern și partea inferioară a pereților laterali, partea superioară a pereților laterali și peretele extern sunt subțiri, de aceea cavitatea lor are formă de cupă. Al patrulea strat, cel pigmentat, e format din celule tangențial alungite, cu conținut de pigment cafeniu. Endospermul este format dintr-un strat de celule bogate în granule de aleuronă („strat aleuronic") și câteva straturi de celule puternic deformate. Țesutul embrionar constă din celule cu pereți subțiri ce conțin ulei gras și granule de aleuronă.

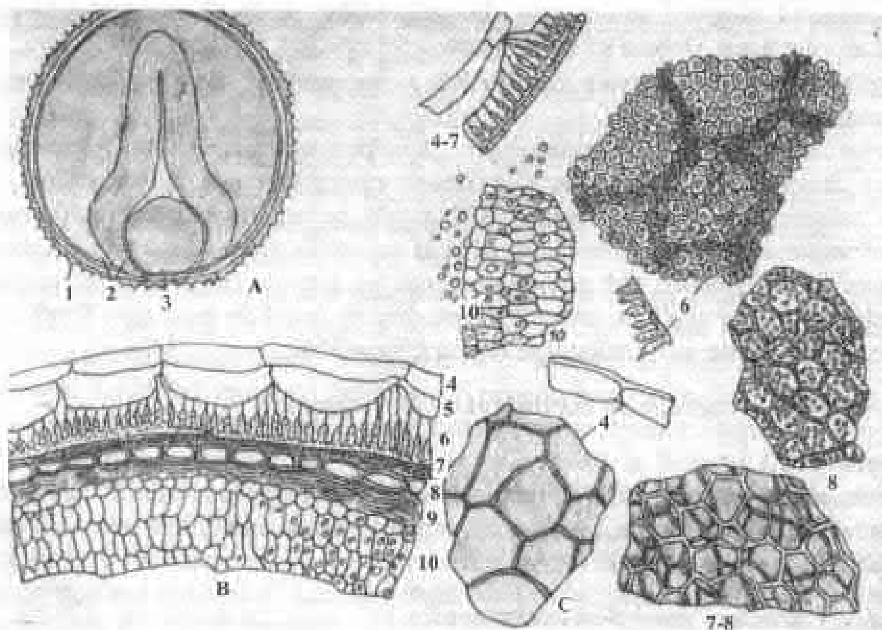


***Fig. 65.* Semințe de muștar.** *A* – schema secțiunii transversale prin sămânță (x72); *B* – fragment de secțiune transversală prin sămânță (x280); *C* – elementele pulberii (x280). *1* – tegument seminal; *2* – cotiledoanele embrionului; *3* – radicula embrionară; *4* – epidermă; *5* – celule gigantice; *6* – strat scleros; *7* – strat pigmentat; *8* – strat aleuronic; *9* – parenchim concrescut; *10* – țesutul cotiledoanelor

Pulberea semințelor de muștar este de culoare galben-deschis. La microscop se observă fragmente ale stratului scleros cu o „rețea umbroasă" specifică, determinată de înălțimea diferită a celulelor, fragmente ale acestui strat în secțiune transversală.

Fragmentele stratului aleuronic sunt identificate după conținutul de granule de aleuronă. Se întâlnesc fragmente ale stratului pigmentat, epidermei, „celulelor gigante", țesutului embrionului și fragmente formate din câteva straturi de celule tegumentare. Este caracteristică reacția la mucilagiu (cu tuș) și reacția la sinigrozidă (cu hidroxid de potasiu concentrat – culoare galbenă).

3.8.2. Analiza chimică

Extragerea uleiurilor sulfurate se efectuează prin antrenare cu vapori de apă.

Identificarea

Identificarea uleiurilor sulfuroase se poate realiza prin trecerea în derivați corespunzători sau prin scindare în amine. Trecerea în derivații corespunzători se poate realiza cu amoniac în soluție alcoolică, conducând la derivați monoalchilici ai tioureei sau cu fenilhidrazină în etanol la cald, când uleiurile sulfuroase generează fenil-alchiltiosemicarbazide, compuși bine cristalizați cu puncte de fuziune nete.

Tehnica de lucru:

- 1-2 picături soluție alil senevol în metanol, în prezența de fenilhidrazină formează un precipitat cristalin din ace subțiri fine. La o concentrație mai mare, pe lângă aceste cristale apar ace lungi, uneori ramificate sau hexagonale ascuțite, insolubile în metanol, solubile în apă, glicerol și cloralhidrat.
- Distilatul obținut din produsul vegetal de analizat se tratează cu jumătate din cantitatea de amoniac și se lasă în repaos 12 ore, într-un vas ermetic închis. Se concentrează apoi pe baia de apă la volum redus, până când apar cristale de alchiltiouree, care tratate cu o picătură de soluție $AgNO_3$ dau naștere unor ace lungi, fine, adeseori ramificate, în formă de snopi. În cazul soluțiilor diluate, cristalizarea apare numai după concentrarea soluției.
- *Resenthaler* propune reacția de oxidare a sulfului până la sulfat cu ajutorul permanganatului de potasiu în mediu acid: la 3 g de produs vegetal se adaugă 5 ml apă într-un pahar de laborator acoperit cu o sticlă de ceas umectată pe partea inferioară cu o picătură de soluție de $KMnO_4$, acidulată cu HCl 10 % și după 10 minute se încălzește la flacără mică timp de 5 minute; se scoate sticla de ceas, se adaugă o picătură de HCl 10 % și din nou se încălzește ușor pentru distrugerea excesului de $KMnO_4$. Soluția obținută se tratează cu o picătură de soluție $BaCl_2$, care în prezența uleiului sulfurat determină o tulbureală (sulfat de bariu).

3.9. Produse vegetale cu conținut de heterozide fenolice

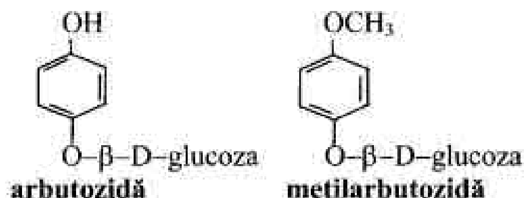
Definiție

Heterozidele fenolice prezintă compuși formați din agliconi cu una sau câteva grupe hidroxile fenolice la un singur inel de benzen și partea glucidică. În afară de hidroxilii fenolici, substituenți în agliconi pot fi și grupările hidrooximetile, hidrooxietile și carboxile.

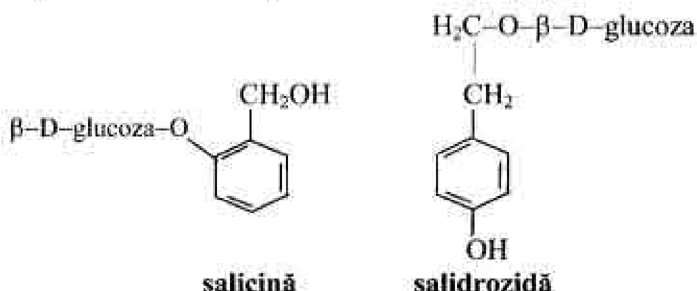
Clasificarea

În funcție de caracterul substituenților din inelul benzenic, heterozidele fenolice se pot împărți în 3 grupe.

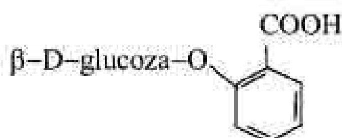
Din *prima* grupă fac parte arbutozida, care se conține în frunzele de strugurii-ursului, merișor, crăciuniță. În aceste plante este prezentă și metilarbutozida. Agliconii acestor heterozide sunt, corespunzător, hidrochinona și metilhidrochinona:



A *doua* grupă de heterozide fenolice este reprezentată de salidrozidă şi salicină. Agliconii acestor heterozide sunt 4-oxifenilmetanolul şi 2-oxifenilmetanolul (alcoolul salicilic). Concomitent cu hidroxilii fenolici, aceşti agliconi au grupe hidroxile alcoolice şi heterozidarea lor poate avea loc după grupele fenolice şi alcoolice:



Reprezentant al celei de-a *treia* grupă este heterozida acidului salicilic, agliconul căreia conţine o grupare carboxilică:



3.9.1. Caractere macro- şi microscopice

UVAE URSI FOLIA – frunze de strugurii-ursului

Planta producătoare: ***Arctostaphylos uva-ursi*** L. (syn.***Arbutus uva-ursi*** L.) – strugurii-ursului

Fam. **Ericaceae**

Caractere macroscopice: frunze obovate, alungite la bază, 7-12 mm în lăţime, 15-22 mm în lungime, vârf rotunjit, ce se îngustează treptat spre bază, trecând în peţiol scurt (3-5 mm). Marginea frunzei întreagă. Frunzele groase, coriacee, glabre, strălucitoare, cu o reţea densă de nervuri clar pronunţată pe partea superioară şi mai puţin pe cea inferioară, de culoare verde, pe partea inferioară mai deschisă.

Gust astringent, amar.

Impurificări posibile. Frunze de merişor (*Vaccinium vitis idaea L.*) (vezi mai jos). Frunze de afin-de-mlaştină (*Vaccinium uliginosum L.*) – lat-ovate sau ovobate, mari, subţiri, de culoare verde-cenuşie. Frunze de afine (*Vaccinium myrtillus L.*).

Caractere microscopice: pe secţiunea transversală se evidenţiază fasciculul libero-lemnos colateral, periciclu colenchimatos ce face punte continuă cu colenchimul de sub epiderma superioară şi inferioară. Pe nervuri se găsesc peri tectori unice-

lulari, sclerificați. În zona periciclului și în mezofil se observă cristale de oxalat de calciu de formă prismatică.

VITIS IDAEAE FOLIA – frunze de merișor-de-munte

Planta producătoare: ***Vaccinium vitis idea*** L. – merișor-de-munte

Fam. **Vacciniaceae**

Caractere macroscopice: frunze coriacee, eliptice sau obovate, vârful rotungit sau emarginat, marginea intreagă, scurt pețiolate. Pe partea superioară lucioase, verzi, pe cea inferioară verzi-deschise cu glande brune. Marginea frunzei recurbată spre interior. Nervura principală e mai pronunțată pe partea superioară a frunzei și proeminentă pe cea inferioară. Nervurile secundare sunt orientate radial în sus, paralele între ele. Frunzele au lungimea de 1,5 la 2-3 cm și lățimea de 0,5-1,2 cm.

Gust amar, astringent.

Caractere microscopice: pe secțiunea transversală se evidențiază un fascicul libero-lemnos colateral, protejat de un periciclu fibros, sclerificat, discontinuu. În dreptul nervurii principale, pe epiderma superioară, rar se întâlnesc peri tectori unicelulari, sclerificați, reuniți câte 2-3 în buchete. În mezofil sunt prezente druze și cristale prismatice de oxalat de calciu.

VIOLAE TRICOLORIS HERBA – părți aeriene de trei-frați-pătați

Planta producătoare: ***Viola tricolor*** L. – trei-frați-pătați; ***V. arvensis*** Murr. – viorea

Fam. **Violaceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din tulpini cu frunze, flori, parțial cu fructe. Frunzele alterne, cu stipele mari, penat partite sau lirate, acoperite cu peri scurți. La *V. tricolor* frunzele inferioare sunt pețiolate, cu limbul ovat, triunghiulare, cu baza cuneiformă. Frunzele mijlocii – ovat alungite, cu baza cuneiformă și pețiolul scurt. Cele superioare alungit lanceolate, cu pețiolul foarte scurt. Florile zigomorfe, solitare, pe pedunculi lungi, cu două bractee. Sepalele (5) alungit lanceolate, la bază cu apendice oval. Corola din 5 petale, inegale; două superioare – obovate, violete, două laterale – eliptice, galbene-violete. Petala inferioară este mai mare decât celelalte, de culoare galbenă-deschisă, cu pinten la bază. La *V. arvensis* frunzele inferioare sunt ovat-rotunjite, pețiolate, cele mijlocii – alungit ovate, cu baza cuneiformă, cele superioare – alungit lanceolate, cu pețiol scurt, flori mici, galbene-albui. Fructul – o capsulă alungit ovată de culoare galbenă-verzuie, care se deschide în 3 valve prin suturi. Semințele mici, de culoare galbenă-deschisă.

Gust dulciu, miros aromat.

3.9.2. Analiza chimică

Identificarea

Reacții de identificare: se pregătește decoct de 5 % din frunze de strugurii-ursului; după răcire se filtrează. Se aplică următoarele reacții de identificare:

- la 1 ml de filtrat se adaugă un cristal de sare de oxid fieros (sulfat de oxid feros, sarea lui *Mohr*). Soluția capătă culoare violetă-roșiatică, violetă, apoi violetă-închisă, după care cade un precipitat (arbutozida);
- la 1 ml de filtrat (în capsulă de porțelan) se adaugă 4 ml soluție de amoniac și 1 ml soluție de sodiu fosforomolibdenic 10 % în acid clorhidric; apare colorație albastră (arbutozida);

– la 3 ml de filtrat se adaugă câteva picături soluție de alauni de fier și amoniu; apare colorație albastră-întunecată și cade precipitat (substanțe tanante).

Identificarea microchimică a totalului principiilor active din *Vitis idaeae folia:* 0,5g pulbere produs vegetal se introduc într-un flacon cu dop rodat și se umectează cu 5 ml acid sulfuric 20 %. După 15 minute se adaugă 10 ml eter etilic și se agită 1 minut. Soluția eterică se decantează într-un pahar *Berzelius* de 50 ml și se evaporă pe baia de apă. Paharul se acoperă cu 2 lame de microscop și se încălzește la flacără mică, până când se obține un sublimat abundent. După răcire, sublimatul se tratează cu o picătură clorură ferică 1 % și se examinează la microscop – se observă cristale aciculare, brun-negricioase.

Identificarea chimică a totalului principiilor active din *Vitis idaeae folia*: la 5 ml infuzie de 2 % din frunze de *Vaccinium vitis idaea* se adaugă 2-3 picături de alaun feriamoniacal. Apare o colorație albastră-închisă, caracteristică polifenolilor.

Identificarea cromatografică a hidrochinonei și arbutozidei din produse vegetale. Prepararea soluțiilor de analizat: 2 g de produs vegetal pulverizat se amestecă cu 0,2 g carbonat de calciu, după care se extrage mai întâi cu 20 ml eter etilic, prin agitare la rece, și se filtrează. Se obține o soluție ce conține agliconi liberi (hidrochinonă, metil-hidrochinonă) – soluția SA_1.

Produsul vegetal epuizat cu eter se refluxează cu 10 ml metanol 50 % pe o baie de apă, timp de 15 minute. Se filtrează. Reziduul se spală cu cantități mici de metanol 50 % încălzit, până la un volum de 20 ml. Pentru îndepărtarea taninurilor, soluția se tratează cu acetat bazic de Pb, se agită și se menține pe o baie de apă în fierbere pentru coagularea precipitatului format. După sedimentare se filtrează: soluția obținută servește pentru identificarea arbutozidei și metil-arbutozidei – soluția SH.

Pentru identificarea agliconului arbutozidei și a metil-arbutozidei, 2 ml din soluția SH se tratează cu 2 ml soluție de acid clorhidric 10 % pe baia de apă în fierbere timp de 30 de minute. Soluția răcită se agită în pâlnia de separare cu o parte egală de eter etilic. Stratul eteric se deshidratează cu sulfat de sodiu anhidru – soluția SA_2.

Din soluțiile SA_1, SA_2 și SH se aplică câte 30 µl pe linia de start.

Faze staționare:
- hârtie cromatografică *Whatman*
- silicagel G

Faze mobile:
- n-butanol: acid acetic:apă (4:3:5), pentru CH
- acetat de etil:metanol:apă (100:13,5:10), pentru CSS

Soluții etalon: hidrochinonă, arbutozidă 1 % în metanol 80 %

Revelare:
- acid fosfomolibdenic 20 % în acetonă, pentru CH
- reactiv *Berlin blue* (BB), pentru CSS

Rezultate: arbutozida (R_f= 0,4), colorație albastră.

3.10. Produse vegetale cu conținut de alcaloizi

Definiție. Alcaloizii sunt produși ai metabolismului secundar și prezintă substanțe organice heterociclice azotate, de origine vegetală, cu caracter bazic, derivate biogenetic din aminoacizi (excepție fac pseudoalcaloizii), care în doze determinate posedă acțiune fiziologică asupra organismului, iar în doze mari sunt toxice.

Clasificare

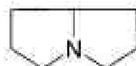
În funcţie de structura ciclului carbon-azot de bază sau de poziţia azotului în moleculă, alcaloizii se clasifică astfel:

I. Derivaţi ai pirolidinei



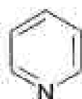
pirolidină

1. *Derivaţi simpli ai pirolidinei*: ghigrina, cusghigrina.
2. *Derivaţi ai pirolizidinei* (sistem biciclic condensat, format din două cicluri de pirolidină): platifilină, senecifilie, saracină extrasă din spălăcioasă.



pirolizidină

II. Derivaţi ai piridinei şi piperidinei

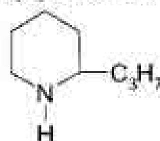




piridină **piperidină**

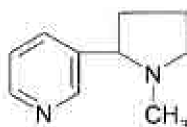
Alcaloizii acestui grup se împart în:

1. *Derivaţi simpli ai piridinei şi piperidinei* (coniina, lobelina).



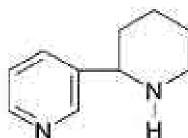
coniină

2. *Derivaţi ai sistemului biciclic necondensat, format din ciclurile piridinei şi pirolidinei*. Din această subgrupă face parte nicotina.



nicotină

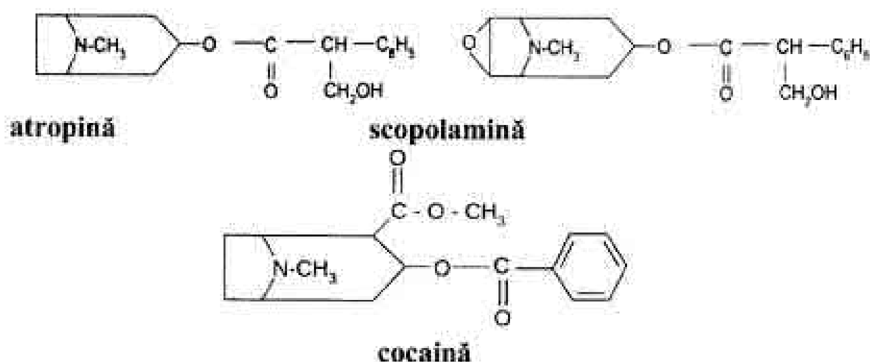
3. *Derivaţi ai sistemului biciclic necondensat, format din ciclurile piridinei şi piperidinei*: anabazina.



anabazină

4. *Derivați ai sistemului biciclic condensat al piperidinei și pirolidinei.*

a) Alcaloizi tropanici: hiosciamină (atropină), scopolamină, cocaină.



atropină **scopolamină**

cocaină

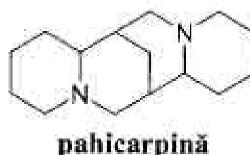
b) Un derivat al sistemului biciclic condensat al piperidinei și pirolidinei este securinina.

5. *Derivații sistemului biciclic condensat, format din două cicluri ale piperidinei sau piridinei și piperidinei (chinolizidinei).*



chinolizidină

Reprezentanți: citizină, pahicarpină, așa-numiții alcaloizi lupinici sau chinolizidinici.



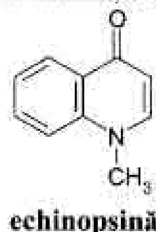
pahicarpină

III. Derivați ai chinolinei



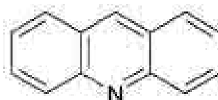
chinolină

Exemple: chinină, chinidină, cinconidină, echinopsină.



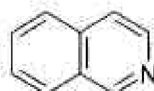
echinopsină

IV. Derivaţi ai acridinei



acridină

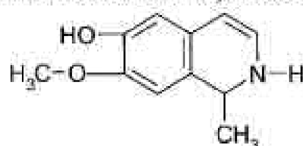
V. Derivaţi ai izochinolinei



izochinolină

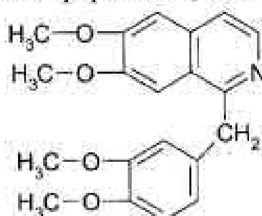
Sunt cunoscute următoarele subgrupe:

1. *Derivaţi simpli ai izochinolinei*: salsolină, salsolidină.



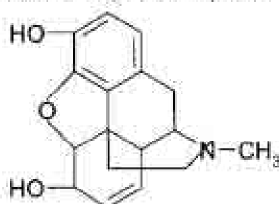
salsolină

2. *Derivaţii benzilizochinolinei*: papaverina, narcotina.



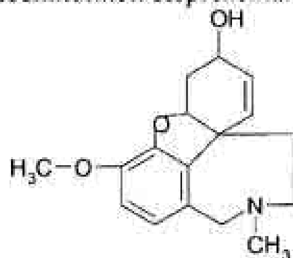
papaverină

3. *Derivaţii fenantrenizochinolinei* (morfină, codeină, tebaină).



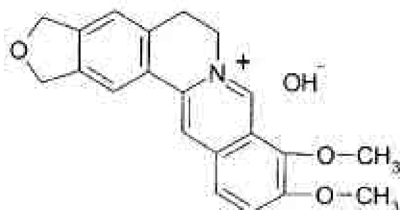
morfină

4. *Derivaţii fenantridinizochinolinei*. Reprezentant: galantamină.



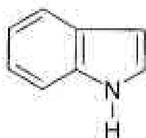
galantamină

5. *Derivații diizochinolinei.* Din această subgrupă fac parte alcaloizii de tipul berberinei.



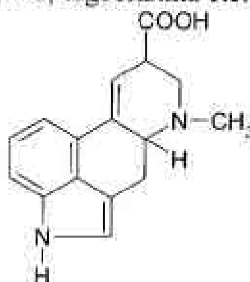
berberină

VI. Derivați ai indolului



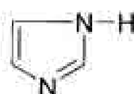
indol

Mulți alcaloizi indolici au o structură complexă – derivați ai acizilor lizergic și izolizergic: ergometrină, ergotamină, ergocristină etc.



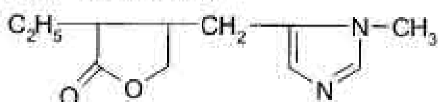
acid lizergic

VII. Derivați ai imidazolului



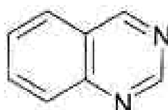
imidazol

Reprezentantul principal – pilocarpina.



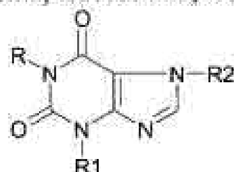
pilocarpină

VIII. Derivați ai chinazolinei



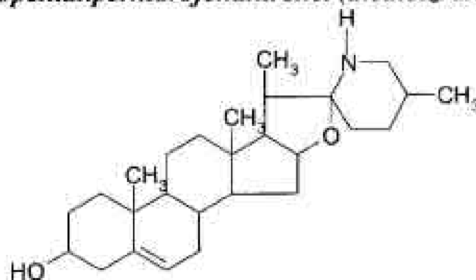
chinazolină

IX. Derivați ai purinei (cofeină, teobromină, teofilină).



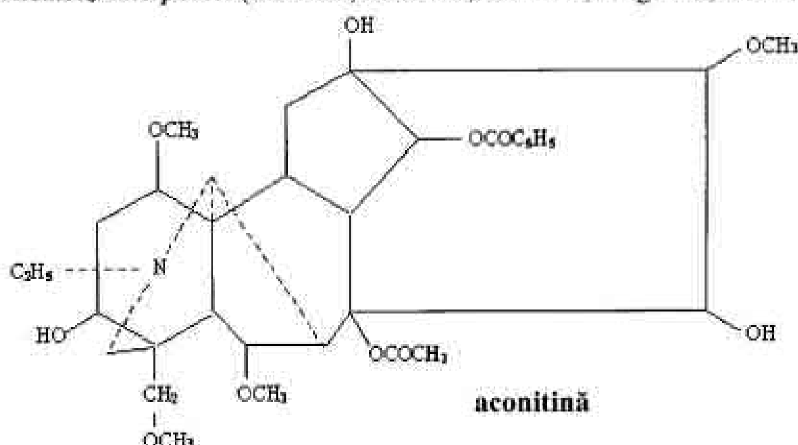
cofeină R=R1=R2=CH_3
teofilină R=R1=CH_3, R2=H
teobromină R=H, R1=R2=CH_3

X. Derivați ai ciclopentanperhidrofenantrenei (alcaloizi steroidici)



solasodină

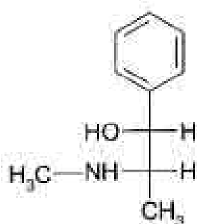
XI. Alcaloizi diterpenici (delsolină, delcosină, aconitină, songorină, acetilsongorină).



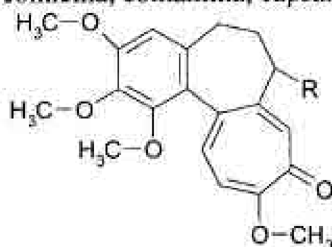
aconitină

XII. Alcaloizi cu azotul în catena laterală (alcaloizi aciclici)

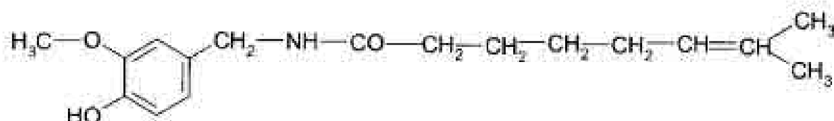
Din această grupă fac parte: efedrina, colhicina, colhamina, capsaicina



L-efedrină



colhicină R=$NHCOCH_3$
colhamină R=$NHCH_3$



capsaicină

3.10.1. Caractere macro- şi microscopice

- **Produse vegetale cu conţinut de alcaloizi tropanici**

BELLADONNAE FOLIA – frunze de mătrăgună
Planta producătoare: ***Atropa belladonna*** L. – mătrăgună
Fam. **Solanaceae**

Caractere macroscopice: frunze mari subţiri, eliptice, lungimea 5-20 cm, lăţimea 3-12 cm, culoarea verde sau verde-cafenie. Limbul frunzei alungit sau lat ovat, vârful acut, baza cuneată. Suprafaţa frunzei slab pubescentă (pe nervurile epidermei inferioare); marginea frunzei întreagă. În produsul vegetal frunzele sunt în majoritatea cazurilor şifonate, frecvent se întâlnesc numai nervuri principale ale frunzei fără limb şi nervuri laterale (acestea se rup uşor).

Miros slab caracteristic, narcotic. Produsul vegetal este toxic.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 66)*. Celulele de pe ambele epiderme au conturul sinuos, stomate din celule mari, ovale, cu ostiola bine pronunţată, înconjurate, de regulă, de 3 celule ale epidermei, dintre care una e vădit mai mică decât celelalte. Cuticula pe ambele părţi striată, mai evidentă în jurul stomatelor, unde, în majoritatea cazurilor, este radiară. Peri de 3 feluri:

1. Peri tectori pluricelulari (3-7 celule), cu o membrană foarte subţire, segmentele concrescute sau răsucite, mototolite, rupte. Acoperă, de regulă, nervurile mari de pe partea inferioară a frunzei.

2. Peri glandulari cu glanda terminală ovală pluricelulară, din 2-11 (mai des 4-6) celule pe un piciorus monocelular (uneori bicelular). Conţinutul celulei glandei terminale de culoare cafenie. Se observă în număr mare pe ambele epiderme ale frunzei.

3. Peri glandulari cu glanda terminală unicelulară, sferică, mai rar ovală, pe piciorus pluricelular. Se întâlnesc în număr mare pe frunzele tinere, fiind dispuşi, prioritar, pe nervurile frunzelor.

În mezofilul frunzei se află celule de formă ovală, cu cristale foarte mici de oxalat de calciu (nisip cristalic). La mărire mică sunt aproape negre, la mărire mare de culoare cenuşie-închisă, cu granulaţie bine distinctă. În centrul celulelor cu nisip cristalic se observă unul sau câteva cristale prismatice, înconjurate de cristale mai mici (nisip oxalic); în alte celule – printre cristale oxalice se observă druze.

Pulberea frunzelor de mătrăgună (preparat în cloralhidrat sau într-o soluţie de bază *(fig. 67)*). Importanţă diagnostică au: fragmentele de epidermă cu cuticula cutată şi stomate mari ovale; în fragmentele de mezofil al frunzei se observă celule ovale cu nisip cristalic de oxalat de calciu; fragmente de nervuri ale frunzei cu vase spiralate şi traheide; fragmente de peri caracteristici. Se întâlnesc fragmente de frunze în secţiune transversală, în care se observă ţesutul palisadic din 1-2 rânduri, parenchimul lacunar cu laticifere mari în stratul de sus al căruia (la frontiera cu ţesutul palisadic) se întâlnesc celule mari cu nisip cristalic de oxalat de calciu. Fasciculele conducătoare de tip bicolateral.

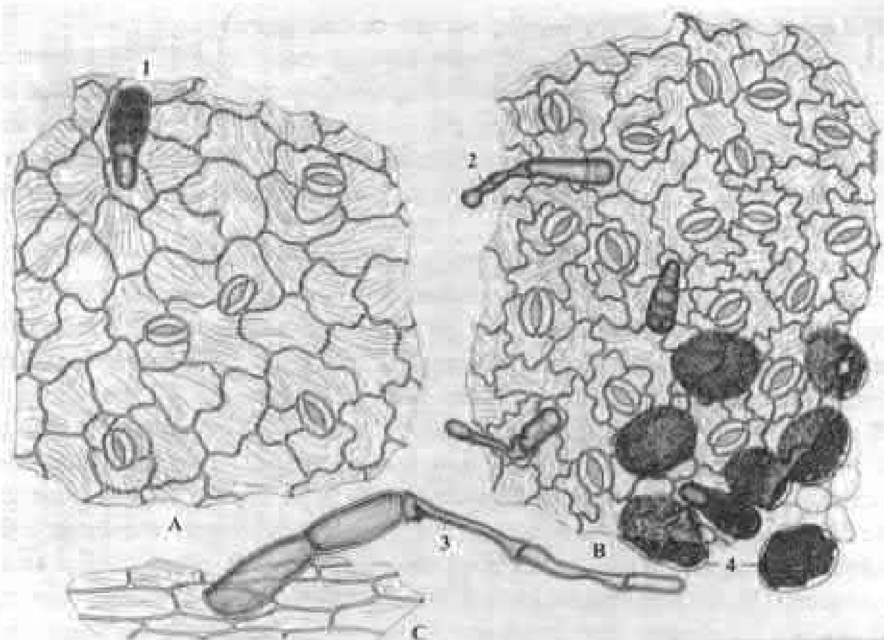


Fig. 66. **Preparat superficial din frunză de mătrăgună (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *C* – epiderma de pe nervură. *1* – peri cu glandă terminală pluricelulară; *2* – peri cu glandă terminală unicelulară; *3* – peri tectori; *4* – celule cu nisip cristalic de oxalat de calciu

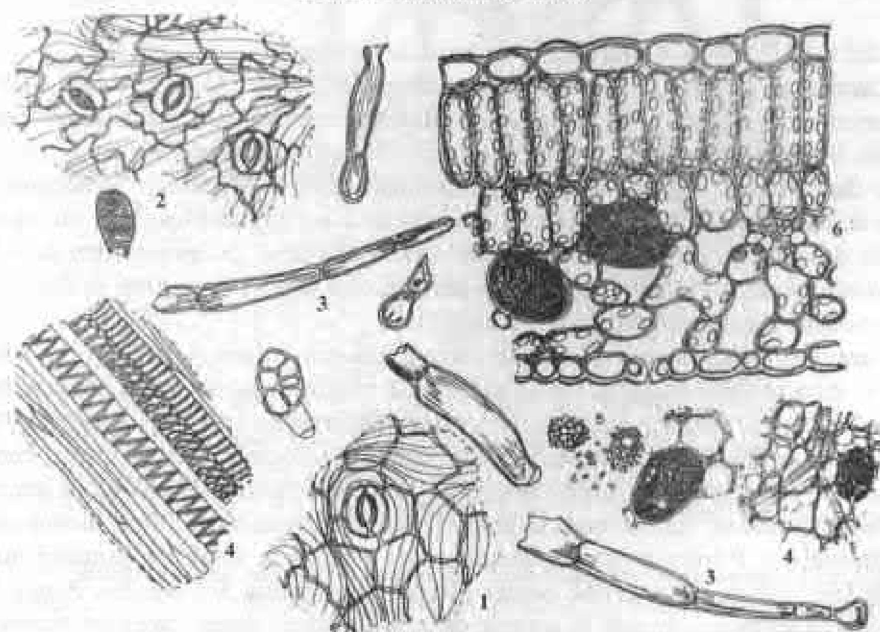


Fig. 67. **Elementele pulberii frunzei de mătrăgună (x280):** *1* – fragmente de epidermă superioară a frunzei; *2* – fragmente de epidermă inferioară a frunzei; *3* – peri; *4* – fragmente de fascicule conducătoare ale nervurii; *5* – nisip cristalic de oxalat de calciu; *6* – fragment de frunză în secțiune transversală

BELLADONNAE HERBA – părţi aeriene de mătrăgună

Caractere macroscopice: tulpini ovale sau slab muchiate, fine, adesea turtite, cavitare, cu măduvă poroasă, de culoare verde sau verde-deschis la exterior şi albă în fractură. Lungimea tulpinilor de circa 25 cm, diametrul cel mult 1,5 cm. Frunzele alterne, dispuse câte două. Florile au corola violetă-cafenie cu 5 lobi şi caliciul verde, care însoţeşte fructul. Fructul – bacă sferică, cu vârful turtit, neagră-violetă la maturizare şi verde în stare imatură.

Miros slab, caracteristic, narcotic. Produsul vegetal este toxic.

Caractere microscopice: părţile aeriene de mătrăgună pot fi recunoscute la microscop după caracteristicile frunzei *(fig.66)*. Tulpinile mătrăgunii au structură nefasciculată. Epiderma tulpinii din celule alungite, acoperite cu o cuticulă striată. Sub epidermă se află scoarţa primară, alcătuită din ţesut clorofilian din 1-2 straturi de celule, urmată de 4-6 rânduri de colenchim şi 1-2 straturi de celule parenchimatice cu pereţii subţiri. În parenchimul scoarţei primare şi în măduvă se văd cristale de oxalat de calciu (nisip cristalic). La hotarul dintre scoarţa primară şi secundară sunt dispuse grupuri mici de fibre mecanice, care formează un inel aproape neîntrerupt. Membranele fibrelor sunt subţiri, uşor lignificate (coloraţie roză abia vizibilă cu fluoroglucină şi acid clorhidric concentrat). Scoarţa secundară din elemente ale liberului cu pereţii subţiri, între care se observă un rând de raze medulare. Cambiul din 2-3 straturi de celule. În lemn, elementele sunt dispuse în rânduri radiare; razele medulare dintr-un rând de celule lignificate poroase. În straturile externe ale măduvei se află porţiunile floemului intern şi fibre mecanice solitare sau grupate câte 2-3. Celulele măduvei sunt foarte mari, cu membrane subţiri.

BELLADONNAE RADICES – rădăcini de mătrăgună

Caractere macroscopice: rădăcini cu lungimea 10-15 cm şi diametrul 8-20 mm, la exterior cafenii-cenuşii, cu striuri longitudinale. Fractura rădăcinii rugoasă sau granuloasă, la rupere formează pulbere (amidon). Pe secţiunea transversală (fractură) se vede o fâşie cenuşie îngustă de scoarţă şi una lată de lemn de culoare albicioasă, delimitată de linia întunecată a cambiului. Se întâlnesc rizomi multicapitaţi, cu suprafaţa zbârcită, de culoare brună, în centru se vede măduva galbenă, cu un diametru de 3-4 cm. În produsul vegetal, rădăcinile şi rizomii sunt mai des tăiaţi longitudinal în două.

Produsul vegetal este lipsit de miros şi toxic.

Caractere microscopice: secţiune transversală prin rădăcină *(fig. 68)*. La exterior rădăcina este acoperită cu un strat subţire (2-6 rânduri) de suber de culoare brună-deschisă. Celulele parenchimului scoarţei sunt relativ mari, tangenţial-alungite, în partea interioară poligonale. Elementele conducătoare ale liberului sunt distincte, cele mai mature fiind slab obliterate. Linia cambiului din câteva straturi de celule. În lemn, elementele conducătoare sunt dispuse în grupuri, vasele lemnoase mari fiind înconjurate de traheide înguste. Printre celulele parenchimului lemnos se întâlnesc porţiuni nu prea mari de liber intern, caracteristic pentru plantele din familia *Solanaceae*. Parenchimul scoarţei şi al lemnului abundă în granule de amidon, unele dintre care sunt simple, sferiforme, iar altele compuse, cu un diametru de 2-20 µm. În alte celule ale parenchimului se observă aglomerări de cristale foarte mici de oxalat de calciu.

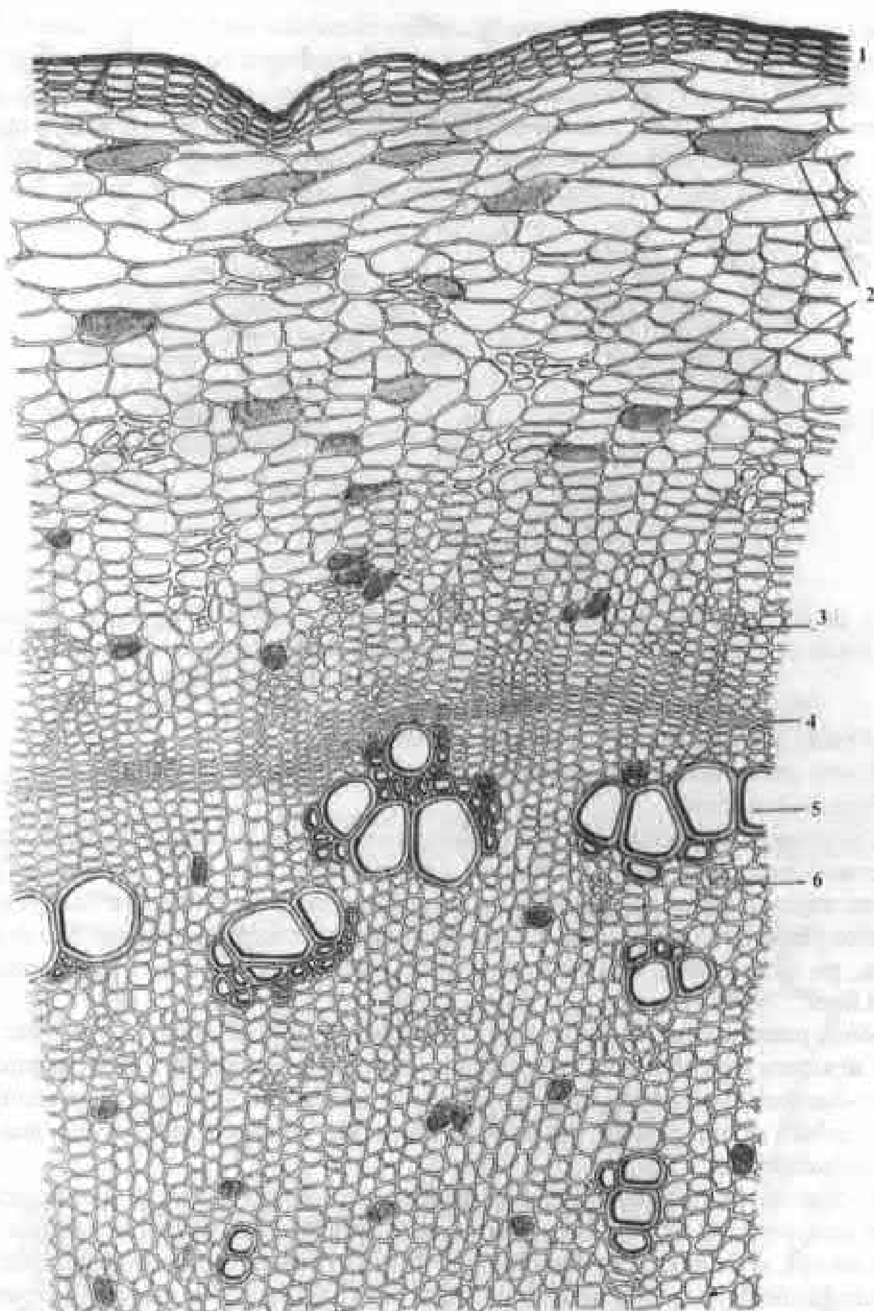


Fig. 68. **Fragment din secțiune transversală prin rădăcina de mătrăgună (x120):**
1 – suber; *2* – celule cu nisip cristalic de oxalat de calciu; *3* – elemente conducătoare ale liberului; *4* – cambiu; *5* – vase lemnoase; *6* – liber intern

Pulberea rădăcinii de mătrăgună de culoare albă-cenușie sau albă-gălbuie. Se caracterizează prin prezența fragmentelor de vase reticulate cu pori areolați; celulele parenchimului conțin nisip cristalic, granule de amidon, fragmente de suber (*fig 69*).

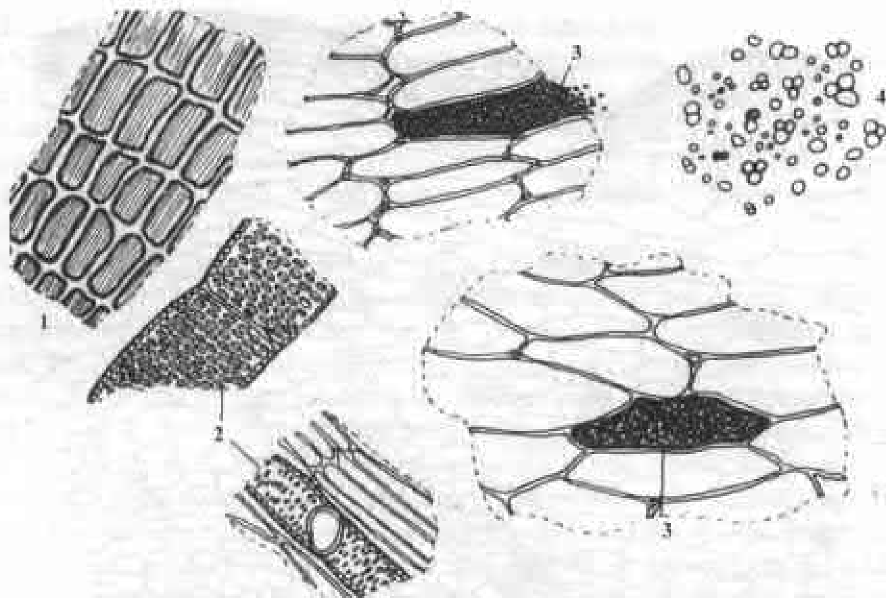


***Fig. 69.* Elementele pulberii rădăcinii de mătrăgună (x280):** *1* – fragmente de suber; *2* – bucăți de țesut lemnos (vase reticulare înconjurate de pori); *3* – celule ale parenchimului cu nisip cristalic de oxalat de calciu; *4* – granule de amidon

HYOSCYAMI FOLIA – frunze de măselariță

Planta producătoare: ***Hyoscyamus niger*** L. – măselariță

Fam. **Solanaceae**

Caractere macroscopice: frunze alungit-ovate până la lanceolate, adânc incizate sau penat-lobate, frunzele de la rădăcină lung-pețiolate, cele de pe tulpină fără pețiol. Nervura mijlocie a frunzei este lată, netedă, albuie, puternic lățită spre bază. Culoarea frunzelor verde-deschisă sau verde-cafenie, partea inferioară de o nuanță mai deschisă. Frunza, pe ambele fețe, mai ales pe nervuri, este acoperită cu peri mari, vizibili cu ochiul liber.

Miros puternic (mai ales la umezirea frunzelor), narcotic. Produsul vegetal este toxic.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 70)*. Epiderma frunzei de pe ambele fețe este formată din celule cu contur sinuos, stomatele predomină pe fața inferioară și sunt rotunde sau ovale, înconjurate, de regulă, de 3 celule, una dintre care este mai mică.

Pe ambele fețe ale frunzei se observă numeroși peri tectori și glandulari. Perii tectori sunt de două feluri: unii nu prea mari, formați din 3-4 celule cu baza lată și vârful ascuțit, se întâlnesc pe ambele părți. Alții se deosebesc prin dimensiunile foarte mari ale celulelor și prin numărul lor mare, localizându-se, în principal, pe nervuri. Atât unii, cât și alții au membrane foarte subțiri și suprafața netedă, pe preparat fiind răsuciți și mototoliți. Perii glandulari au piciorуș pluricelular (2-4 celule) și glanda terminală pluricelulară (rar unicelulară), ovală, cu un conținut gălbui. Perii glandulari se întâlnesc pe toată suprafața frunzei, fiind mai numeroși pe marginea ei.

Mezofilul frunzei conține mult oxalat de calciu, mai des sub formă de cristale prismatice. Se întâlnesc și cristale sferice, iar în nervurile mari – celule ovale cu nisip cristalic. Foarte mult oxalat de calciu conțin frunzele mature, în cele mai tinere întâlnindu-se cristale prismatice mici, dispuse în apropierea nervurilor.

Pulberea verde-gălbuie sau verde-cenușie (preparat cu cloralhidrat sau cu soluție de bază) *(fig.71)*. Conține fragmente de epidermă, bucăți de frunze cu cristale, peri. Se întâlnesc și fragmente ale frunzei în secțiune transversală; în acest caz putem vedea structura frunzei – țesutul palisadic dintr-un singur rând de celule, țesutul lacunar foarte poros. Stratul de țesut, învecinat cu cel palisadic, conține cristale de oxalat de calciu, iar stratul exterior al celulelor țesutului palisadic are aspect de țesut lacunar. Pulberea conține și particule străvezii.

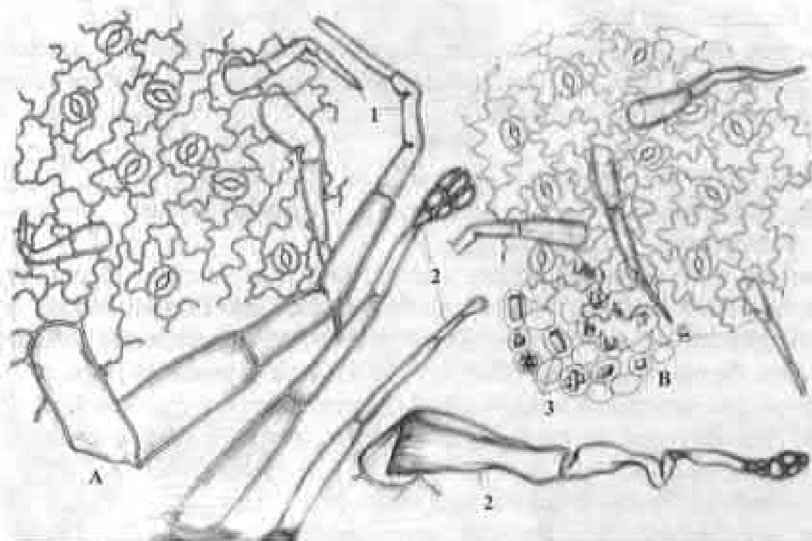


***Fig. 70.* Preparat superficial din frunza de măselăriță (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară. *1* – peri tectori; *2* – peri glandulari; *3* – cristale de oxalat de calciu

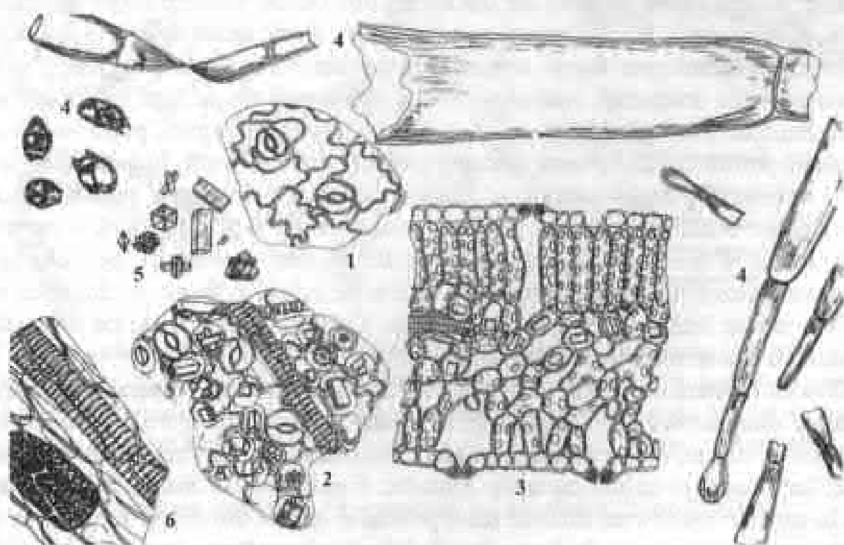


***Fig. 71.* Elementele pulberii frunzei de măselăriță (x280):** *1* – fragmente de epidermă; *2* – fragmente de frunză (privire de sus); *3* – fragment de frunză în secțiune transversală; *4* – fragmente de perișori; *5* – cristale de oxalat de calciu de forme diferite; *6* – fragment de țesut al nervurii

SCOPOLIAE RHIZOMATA – rizomi de mutulică

Planta producătoare: ***Scopolia carniolica*** L. – mutulică

Fam. **Solanaceae**

Caractere macroscopice: fragmente întregi sau despicate, cu striuri, noduri și strangulații pronunțate. Pe suprafață se observă cicatrici circulare, urme ale tulpinilor și cicatrici mici, ovale, ale rădăcinilor detașate. Fractura este netedă și nepulverulentă. Culoarea este brună la exterior și alb-gălbuie la interior; mirosul lipsește, iar gustul este amar. Produsul este toxic.

Caractere microscopice: pe secțiunea transversală se observă o structură secundară cu raze medulare largi. În parenchimul cortical îngust și în țesutul medular cristale de oxalat de calciu, granule de amidon.

STRAMONII FOLIA – frunze de ciumăfaie

Planta producătoare: ***Datura stramonium*** L. – ciumăfaie (laur)

Fam. **Solanaceae**

Caractere macroscopice: frunze mari cu lungimea de circa 25 cm, lățimea de 10-20 cm, cu pețioli lungi, în secțiune de formă circulară. Limbul frunzei cu contur lat-ovat, vârful acut. Nervurile (cea mijlocie și cele laterale mai mari) proeminente pe fața inferioară. Pe nervuri, pe fața inferioară, se observă pubescență (lupa x10). Culoarea frunzei pe fața superioară verde-închisă, pe cea inferioară mai deschisă. În produsul vegetal frunzele sunt, în majoritatea cazurilor, parțial rupte; se observă și fragmente de nervuri laterale.

Miros neplăcut. Produsul vegetal este toxic.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 72)*. Epiderma frunzei din celule cu contur sinuos, deasupra nervurilor alungite. Pe fața inferioară stomatele în număr mult mai mare, decât pe cea superioară. Acestea sunt ovale sau rotunde, înconjurate, de regulă, de 3 celule ale epidermei (uneori de 4-5). Pe suprafața frunzei și a pețiolului peri de două tipuri: tectori și glandulari. Perii tectori din 2-3 (mai rar 4-5) celule mari, cu membrane foarte subțiri și suprafața neregulată. Mulți peri sunt răsuciți, mototoliți sau fracturați, mai ales pe nervurile mari de pe fața inferioară și de pe marginea frunzei. Perii glandulari au un piciorus unicelular, scurt, puțin îndoit și glandă terminală multicelulară (foarte rar unicelulară), invers-ovată, îndoită spre suprafața frunzei. Conținutul glandei terminale cafeniu-gălbui. Se întâlnesc pe toată suprafața, dar mai des pe micile ramificații ale nervurilor, iar pe fața inferioară – pe nervurile mari. Pe frunzele tinere perii tectori și glandulari sunt mai mulți, pe cele mature – foarte puțini. Mezofilul frunzei abundă în oxalat de calciu în formă de druze cu vârfurile boante. Mai rar se întâlnesc cristale individuale. Celulele alungite de pe nervurile mari conțin cristale foarte mici de oxalat de calciu.

Pulberea frunzei de ciumăfaie (preparat cu cloralhidrat sau soluție de bază) *(fig. 73)*. Însemnătate diagnostică au fragmentele de epidermă și de peri, de frunze, care conțin îngrămădiri de druze, și exemplare solitare, fragmente de nervuri, în care se văd vase spiralate, iar uneori și celule cu nisip cristalic, fragmente de frunze în secțiune transversală, în care se observă un rând de țesut palisadic format din celule lungi, țesut lacunar și un strat aproape continuu de druze în celulele din vecinătatea țesutului palisadic.

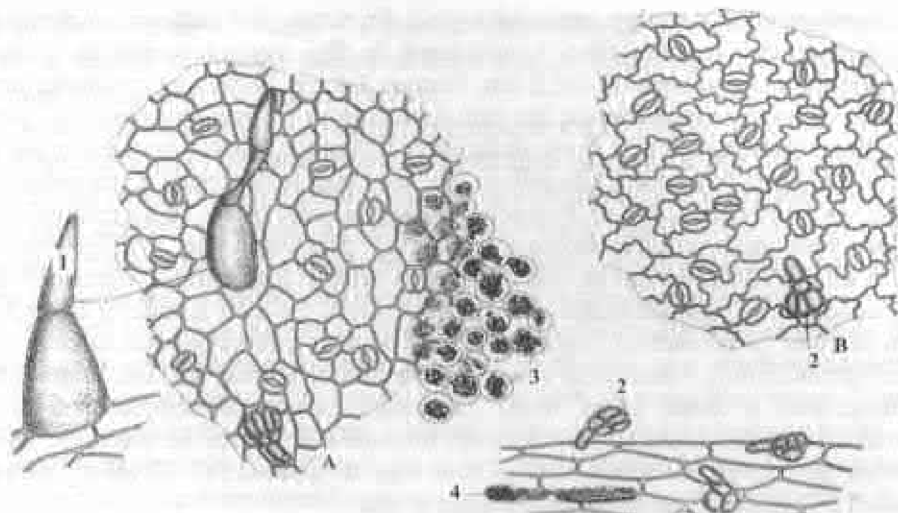


Fig. 72. **Preparat superficial din frunza de ciumăfaie (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *C* – epiderma de pe nervură. *1* – peri tectori; *2* – peri glandulari; *3* – cristale de oxalat de calciu

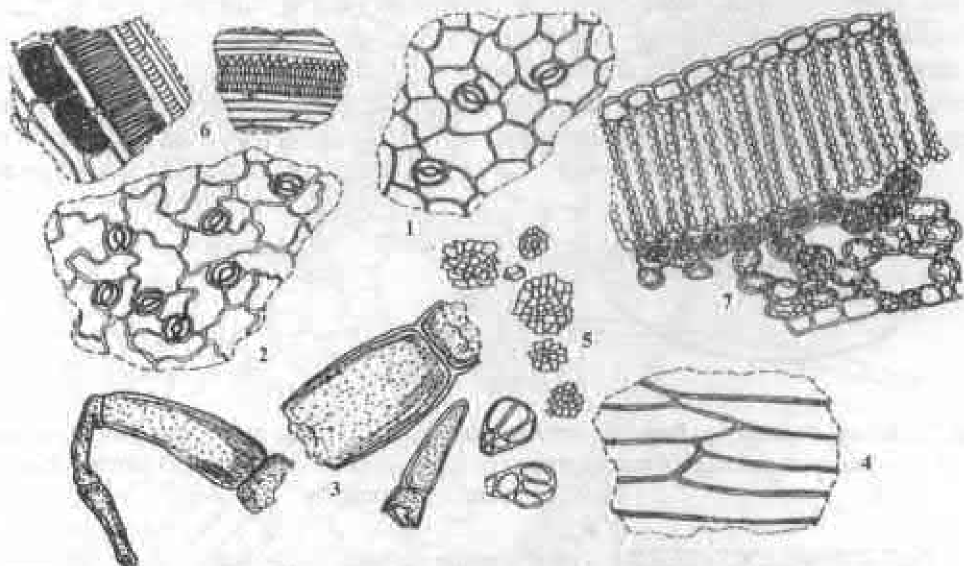


Fig. 73. **Elementele pulberii frunzei de ciumăfaie (x280):** *1* – fragmente de epidermă a părții superioare a frunzei; *2* – fragmente de epidermă a părții inferioare a frunzei; *3* – peri tectori; *4* – fragmente de epidermă a nervurii; *5* – druze de oxalat de calciu; *6* – bucăți de fascicule conducătoare ale nervurii; *7* – fragment al frunzei în secțiune transversală

- **Produse vegetale cu conținut de alcaloizi chinolizidinici**

NUPHARIS LUTEAE RHIZOMATA – rizomi de nufăr-galben
Planta producătoare: ***Nuphar lutea*** **L.** – nufăr-galben
Fam. **Nymphaeaceae**

Caractere macroscopice: produsul vegetal din rizomi fără rădăcini, cu rămășițe de pețioli ai frunzelor. Rizomii tăiați longitudinali în fâșii sau transversal în bucăți de forma discului cu grosimea de 1-1,5 cm, lățimea 2-6 cm. Suprafața rizomului brună-gălbuie cu cicatrici cafenii-închise ale pețiolului frunzei (forma triunghiulară), pedunculului floral (forma rotundă) și ale rădăcinilor înlăturate (puncte întunecate sau pete rotunde). Culoarea în fractură alb-gălbuie. Pe secțiunea transversală a rizomilor – numeroase fascicule conducătoare. Parenchimul fundamental poros, cu aerenchim.

Caractere microscopice: secțiune transversală prin rizom *(fig. 74)*. Epiderma formată din unul sau două rânduri de celule cu pereții celulari îngroșați sau lignificați. Straturile periferice ale parenchimului de bază sunt dense, cu mici laticifere: în unele locuri au caracter de colenchim unghiular. Parenchimului fundamental cu cavități aeriene mari (aerinchimul). Fasciculele conducătoare sunt colaterale, închise, foarte diferite după dimensiuni și formă, uneori duble. Elementele fasciculelor conducătoare sunt cu mult mai mici decât celulele parenchimului fundamental. Elemente mecanice lipsesc. În celulele parenchimului se întâlnesc granule mari de amidon (15–30 mkm), simple și compuse (2–4 granule), de forma rotundă sau ovală.

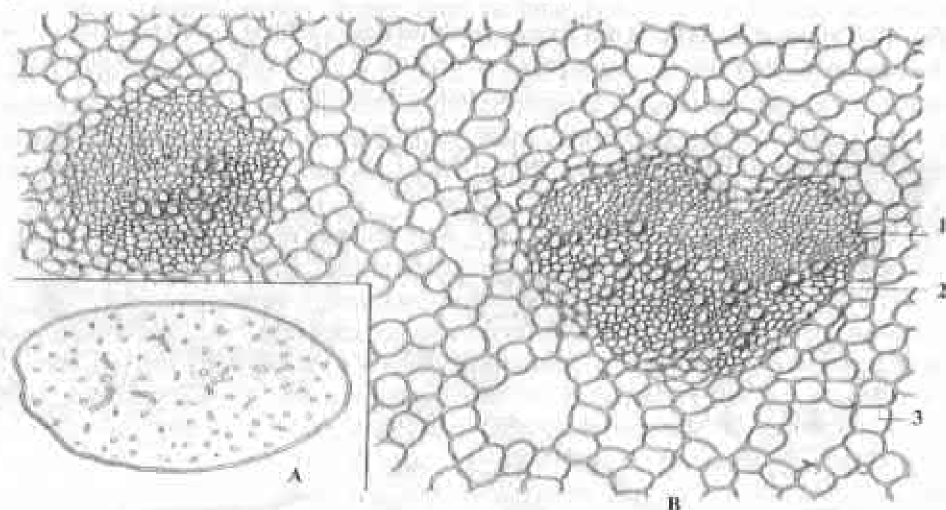


***Fig. 74.* Rizom de nufăr-galben:** *A* – schema secțiunii transversale prin rizom, privită cu lupa; *B* – un fragment al secțiunii transversale prin rizom, prin fascicule conducătoare (x120).
1 – liber; *2* – lemn; *3* – aerenchim

THERMOPSIDIS HERBA – părți aeriene de linte-lanceolată
Planta producătoare: ***Thermopsis lanceolata*** R. Br. – linte-lanceolată
Fam. **Fabaceae**

Caractere macroscopice: tulpina de 10-20 cm în lungime, fără sau cu câteva ramificații, ușor brăzdată, acoperită cu peri albicioși. Frunzele alterne, scurt pețiolate (4-8 mm), trifoliat-compuse. Foliolele alungite, lungimea 30-60 mm, lățimea 5-12 mm, epiderma superioară glabră, cea inferioară cu peri îndoiți, îndreptați spre vârf, stipelele lanceolate sau ovate, cu mult mai lungi ca pețiolul, de asemenea acoperite cu peri îndoiți. Florile galbene, grupate în raceme axilare. Caliciul cu 5 lobi, cu lungimea de 15-18 mm, acoperit cu peri îndoiți. Corola papilionată: stindardul cu lungimea de 25-28 mm, lățimea de 17-24 mm, îndoitura aproape rotundă, la vârf adânc și îngust segmentat, androceul

din 10 stamine libere. Fructul – o păstaie liniar-alungită, curbată, acoperită cu peri. Produsul vegetal nu trebuie să conțină fructe mature. Semințele sferic-ovate, de culoare neagră-verzuie, cu o cicatrice deschisă.

Miros slab caracteristic. Produsul vegetal este toxic.

Caractere microscopice: preparat superficial din foliolă *(fig. 75)*. Epiderma superioară din celule mari cu contur poligonal, cea inferioară din celule cu contur sinuos. Pe alocuri, celulele epidermei au pereții celulari vădit îngroșați (pe nervuri și în jurul locului de fixare a perilor). Stomatele, mai abundente pe fața inferioară, sunt adâncite, ovale, înconjurate, în majoritatea cazurilor, de 4-5 celule ale epidermei.

Pe toată suprafața frunzei se observă peri bicelulari, lipiți de suprafața frunzei, alcătuiți dintr-o celulă bazală scurtă, în formă de butoiaș, și o celulă terminală, unită cu prima sub un unghi aproape drept – perii sunt lipiți de suprafața frunzei. Ei aderă la o celulă mică, rotundă, a epidermei îngroșată asemenea celulei bazale a părului. Celula terminală a perilor este foarte lungă, cu o membrană groasă, la exterior tuberoasă, sau mai puțin lungă, cu o membrană subțire, aproape netedă și o cavitate largă. În jurul locului de fixare a perilor, celulele epidermei formează o rozetă. Dacă părul cade, în centrul rozetei rămâne un pilier rotund. Structura perilor poate fi studiată pe marginea foliolei, unde aceștia se văd dintr-o parte.

Celulele epidermei frunzei au incluziuni sfero-cristaligene de heterozid fenolic, de culoarea galbenă-brună și de forme foarte diferite – de la rotundă, ovală și riniformă până la ramificată. Cristalele heterozidului fenolic sunt ușor solubile în bază, iar prin metoda obișnuită de pregătire a preparatului din produsul vegetal uscat (fierberea în soluție de bază alcalină) ele se dizolvă. Pentru studierea cristalelor, produsul vegetal se prepară în cloralhidrat prin fierbere.

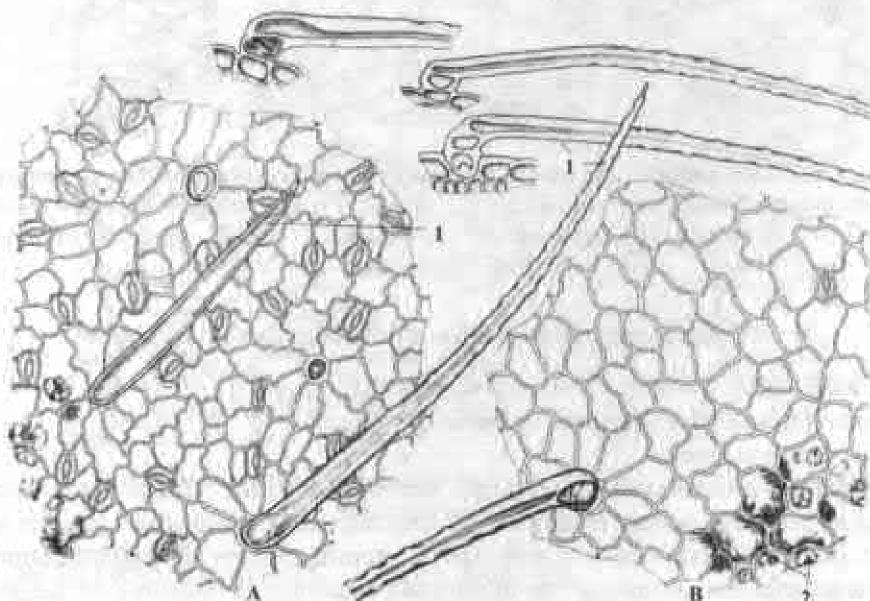


***Fig. 75.* Preparat superficial din frunza de linte-lanceolată (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară. *1* – peri tectori; *2* – cristale de heterozid

Pulberea din părțile aeriene de linte-lanceolată este de culoare verde-cenușie. La microscop *(fig. 76)* se identifică fragmente de epidermă a frunzei cu stomate adâncite și cristale caracteristice de heterozid fenolic; numeroase fragmente de peri, dar predomină perii cu membrane groase, tuberoase; pe fragmentele de foliole de pe secțiunea transversală a frunzei se pune în evidență țesutul palisadic, cu spații intercelulare mai evidente în partea de jos. În pulbere sunt multe țesuturi ale tulpinii, dintre care mai caracteristice sunt fragmentele de epidermă, formate din celule mari, lungi, printre care prevalează locurile de fixare ale perilor; în celule se văd cristalele de heterozid fenolic. Se întâlnesc elemente ale fasciculelor conducătoare ale tulpinii – fragmente de parenchim, de vase (spirale, poroase), fibre mecanice.

Se observă, de asemenea, elemente florale: fragmente de petale cu cuticula striată, polen sferic sau oval cu diametrul de 25-28 μm.

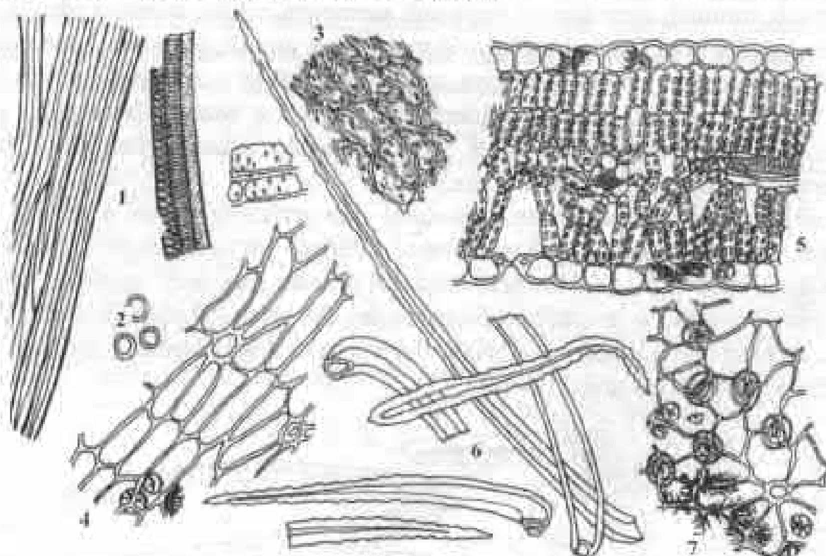


***Fig. 76.* Elementele pulberii din părțile aeriene de linte-lanceolată (x280):** *1* – fragmente ale țesutului tulpinii (bucăți de fibre și vase); *2* – polen; *3* – epiderma foliolelor; *4* – epiderma tulpinii; *5* – fragment de frunză în secțiune transversală; *6* – peri; *7* – epiderma frunzei cu cristale de heterozid

- **Produse vegetale cu conținut de alcaloizi izochinolinici**

BERBERIDIS CORTEX – scoarță de dracilă

Planta producătoare: ***Berberis vulgaris*** L. – dracilă

Fam. **Berberidaceae**

Caractere macroscopice: fâșii lungi, curbate sub formă de jgheaburi sau rulate în tuburi cu asperități pe fața exterioară. Scoarța tulpinii prezintă striuri și fisuri longitudinale, pe rădăcini mai scurte și mai groase, suprafața exterioară rugoasă. Suprafața externă a scoarței este cenușie (de pe tulpini) sau brună (de pe rădăcini), iar cea internă galben-aurie, care în timp devine brun-gălbuie.

Gustul este amar, mirosul lipsește. Produsul vegetal este toxic.

Caractere microscopice: în secțiunea transversală se evidențiază parenchimul cortical redus, raze medulare bi- și triseriate, și numeroase mănunchiuri arcuate de

fibre liberiene sclerificate, dispuse stratificat şi înconjurate de o teacă cu cristale prismatice de oxalat de calciu.

BERBERIDIS FOLIA – frunze de dracilă

Caractere macroscopice: frunze eliptice cu baza cuneiformă şi vârful rotunjit, scurt peţiolate. Marginea frunzei slab dinţată. Dimensiunile limbului frunzei: lungimea 15-60 mm, lăţimea 10-40 mm. Partea superioară a frunzei verde-întunecată, cea inferioară – mai deschisă, cu o reţea bine vizibilă de nervuri proeminente. La unele frunze, pe partea inferioară, se observă puncte cafenii-roşiatice, ce reprezintă corpul fructifer al ciupercii-de-rugină. Pe suprafaţa frunzei se observă un strat de ceară.

Miros slab, caracteristic. Produsul vegetal este toxic.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 77)*. Epiderma frunzelor foarte tinere constă din celule mici, cu contur sinuos şi membrană relativ subţire. Pe alocuri pereţii celulari sunt îngroşaţi, formând proeminenţe nu prea mari, mai ales în apropierea stomatelor, vizibile pe partea inferioară a frunzei. Celulele stomatice ovale sau rotunde, cu 5-6 celule anexe, dispuse radial în jurul stomatei. Peri nu se observă. Frunzele mature, pe cale de a deveni aspre, pot fi distinse după caracterul epidermei: celulele acesteia sunt slab sinuoase sau aproape poligonale (pe partea superioară); pereţii celulari se îngroaşă pe măsura maturizării frunzelor. Pe partea inferioară a frunzei se întâlnesc uneori formaţiuni ovale sau rotunde – corpuri de fructificare ale ciupercii-de-rugină. În jurul lor numeroşi spori de formă alungit-ovală.

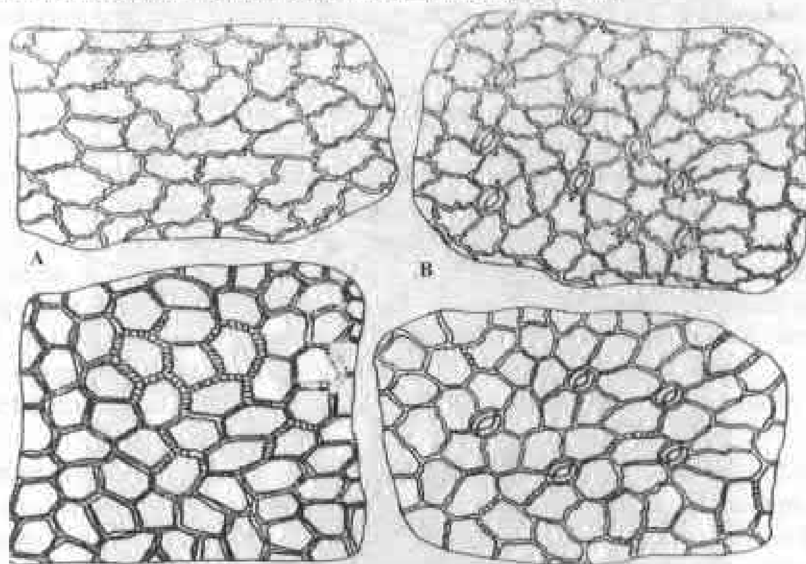


Fig. 77. **Preparat superficial din frunza de dracilă (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară

BERBERIDIS RADICES – rădăcini de dracilă

Caractere macroscopice: produs vegetal din rădăcini întregi sau tăiate în două, cu lungimea de 10-30 cm, diametrul 1-4 cm, mai rar 5-6 cm. Rădăcinile sunt cilindrice, puţin îndoiate, foarte tari şi grele. Suprafaţa rădăcinii este acoperită cu suber longitudinal, cafeniu-cenuşiu sau de culoarea ciocolatei. Fractura rădăcinii scurt-fibroasă. Pe

secțiune, sub suber, se vede clar scoarța galbenă-întunecată, iar în centru – lemnul galben sau galben-verzui cu straturi anuale bine conturate. La unele rădăcini, în centrul lemnului se evidențiază un nucleu nu prea mare (3-5 mm) de culoare cafenie.

Scoarța și lemnul în lumină ultravioletă sau violetă-albastră fluorescează în galben-verzui (alcaloidul berberina). Suberul rămâne cafeniu-întunecat și mat.

Produsul vegetal are miros foarte slab, gust amar. Este toxic.

Caractere microscopice: secțiune transversală prin rădăcină *(fig. 78)*. La mărire mică se observă suberul, format din mai multe rânduri de celule, scoarța și lemnul. Numeroasele raze medulare în scoarță se lărgesc în formă de pâlnie. Vasele mari ale lemnului de primăvară delimitează clar frontiera straturilor anuale. La o mărire mai mare se observă și unele elemente fine ale structurii anatomice. În scoarță se conturează numeroase rânduri tangențiale de elemente obliterate ale liberului, care dau reacție pozitivă la mucilagiu (pereții celulari obliterați și conținutul lor la tratare cu albastru de metilen capătă o culoare albastră).

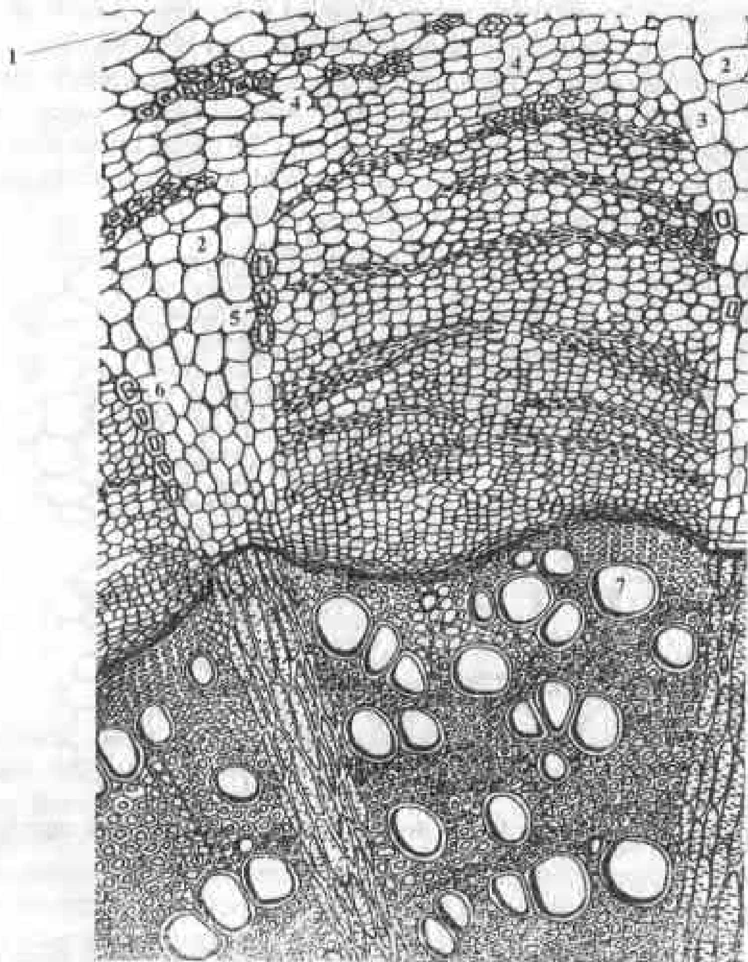


***Fig 78.* Fragment din secțiunea transversală prin rădăcina de dracilă (x280):**
1 – parenchimul scoarței; *2* – raze medulare; *3* – filamente ale elementelor obliterate ale liberului; *4* – fibre liberiene; *5* – celule sclerificate; *6* – cristale de oxalat de calciu; *7* – vase

Elementele mecanice din scoarţa rădăcinii sunt formate din celule sclerificate şi fibre liberiene. Sclereidele sunt dispuse în straturile externe ale parenchimului sau în apropierea razelor medulare, sau chiar în raze. În secţiune transversală sunt rotunde sau tetraunghiulare, cu pereţii celulari poroşi, de culoare galbenă. Fibrele liberiene sunt aşezate în grupuri mici, într-un rând sau solitare, cel mai des alături de grupul elementelor obliterate. Sunt rotunde sau uşor turtite, cu membrană stratificată galbenă-albuie, străpunsă de pori înguşti. Între ambele tipuri de elemente mecanice (celule sclerificate şi fibre liberiene) există forme intermediare (sclereide fibriforme).

Unele celule ale razelor medulare conţin cristale prismatice de oxalat de calciu, iar unele celule ale parenchimului granule simple (2-4 μm) de amidon. Toate elementele lemnului, vase, traheide şi fibre, inclusiv celulele razelor medulare, sunt lignificate (reacţia cu fluoroglucină şi acid clorhidric concentrat).

Reacţia pentru berberină. Secţiunea transversală prin scoarţa rădăcinii sau lăstarului (material proaspăt) se aşează pe o lamă de sticlă în acid clorhidric de 2 % şi se acoperă cu lamela. După 1-2 minute se examinează la microscop aglomerări de cristale aciforme, galbene, de berberină. La lumina ultravioletă (microscop luminescent), cristalele fluoresceazã galben-verzui.

CHELIDONII HERBA – părţi aeriene de rostopască

Planta producătoare: ***Chelidonium majus*** L. – rostopască

Fam. **Papaveraceae**

Caractere macroscopice: tulpini ramificate la vârf, cu internoduri cavitare, acoperite cu peri mari şi fini, frunze penat-sectate, în 5-7 lobi circulari cu marginea crenată, lobul terminal mai mare şi divizat în trei. Partea inferioară a frunzelor albăstruie, cea superioară de un verde-intens. Peţiolul frunzelor şi nervurile epidermei inferioare a limbului acoperite cu peri moi. Ramurile pornesc de la subsuoara frunzelor. Florile, grupate câte 4-6 (uneori 2-10), formează inflorescenţe de tip umbelă simplă pe pedunculi pubescenţi. Bobocii florali sunt puţin aplecaţi, invers-ovaţi, de culoare verde-gălbuie, pubescenţi, acoperiţi cu 2 sepale care cad la deschiderea florilor. Petalele, în număr de 4, sunt galbene-deschise, rotunde, staminele numeroase, cu fibre îngroşate spre vârf. Ovarul superior, liniar. Fructul este o capsulă siliciformă (3,5-5,8 cm) cu 2 valve şi numeroase seminţe mici, negre sau cafenii (imature), cu gropiţe pe suprafaţă, prevăzute cu o hexă albă cărnoasă.

Gustul iute-amărui, mirosul caracteristic puternic excitant, în special la mărunţire. Toxic.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 79)*. Celulele epidermei au contur sinuos, mai ales pe faţa inferioară. Stomatele dispuse pe faţa inferioară sunt ovale, înconjurate de 4-7 celule ale epidermei. La vârful fiecărui lob al frunzei se află hidatode, destinate pentru eliminarea apei. Însemnătate diagnostică au laticiferele, cu un conţinut brun-gălbui, care trec în fascicule conducătoare. Toate nervurile frunzei, chiar şi cele mai mici ramificaţii, sunt însoţite de laticifere. Ţesutul lacunar formează spaţii intercelulare (caracter de aerenchim). Pe nervuri, mai ales pe faţa inferioară, se observă peri tectori pluricelulari (din 7-20 de celule cu nuclee vizibile în fiecare celulă). Membranele perilor sunt subţiri şi pot fi răsuciţi şi mototoliţi.

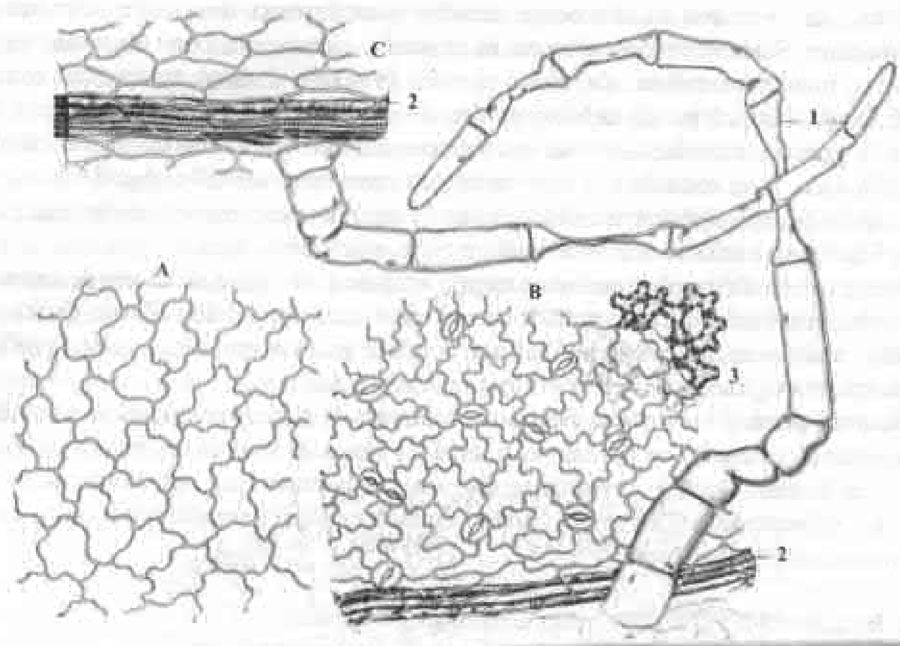


Fig. 79. **Preparat superficial din frunza de rostopască (x280):** *A* – epiderma inferioară; *B* – fragment al epidermei inferioare; *C* – fragment de nervură. *1* – peri tectori pluricelulari; *2* – laticifere; *3* – țesut lacunar

OPIUM – opiu

Planta producătoare: ***Papaver somniferum*** L. – mac-de-grădină

Fam. **Papaveraceae**

Caractere macroscopice: opiul prezintă un suc laticifer uscat, o masă amorfă, moale, de culoare brună-închisă sau cafenie, obținut la incizia capsulelor imature de mac, cu miros specific narcotic.

Pulberea de opiu, obținută prin mărunțirea opiului uscat, are culoarea brun-deschis sau cafenie, miros și gust specific narcotic pentru opiu. Toxic.

Caractere microscopice: pulberea de opiu în cloralhidrat *(fig. 80)*. Produsul de bază al opiului prezintă la microscop o masă amorfă, fără structură, de culoare gălbuie-brună, în care se observă formațiuni gălbui sferice de diferite dimensiuni – sucul laticifer. Pulberea de opiu mai conține elemente celulare, rezultate la chiuretarea sucului laticifer de pe inciziile fructului. La identificarea opiului la microscop servesc: fracturile epidermei fructului, constituită din celule mici, poligonale, cu membrane îngroșate neuniform până la reticular. Se întâlnesc și un număr mic de stomate. Fracturile epidermei sunt însoțite de fragmente de pericarp, celulele epidermei căruia au membrane groase, celelalte celule au pereții mai subțiri. Din incizii în opiu nimeresc vase (în spirală, reticulare) și laticifere cu conținut granulos brun-cenușiu.

La cercetarea pulberii de opiu în soluție concentrată de cloralhidrat sau în glicerol se pot observa numeroase cristale incolore aciforme sau fracturile lor. Lactoza, adăugată la opiu, condiționează conținutul determinat de morfină.

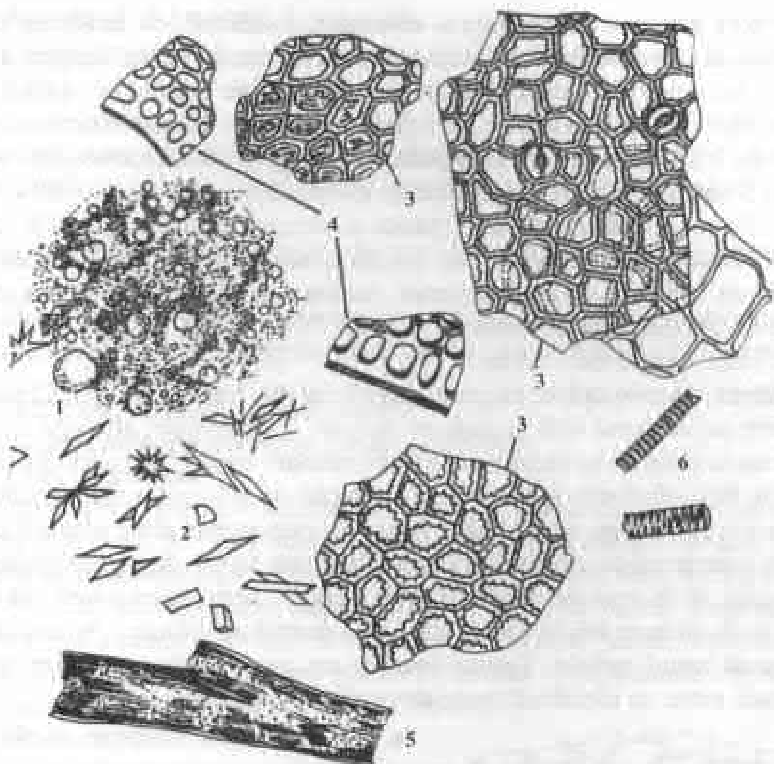


Fig. 80. **Elemente ale pulberii de opiu (x280):** *1* – conglomerat de suc laticifer; *2* – cristale de lactoză; *3* – fragmente ale epidermei fructului; *4* – fragmente de pericarp în secțiune transversală; *5* – fragmente de laticifere; *6* – fragmente de vase lemnoase

PAPAVERIS CAPITA – capsule de mac

Planta producătoare: ***Papaver somniferum*** L. – mac-de-grădină

Fam. **Papaveraceae**

Caractere macroscopice: fructele prezintă capsule cu diametru de 2-5 cm, de formă diferită – ovată, invers-ovată, sferică, alungit-ovată. În vârf fructele sunt încoronate cu un stigmat multiradiar, concrescut în fructele mature într-un disc piramidal, convex sau plan. Fructele la exterior sunt netede, în interior despărțite prin membrane lamelare, în care se află numeroase semințe riniforme, mici, până la 1,5 mm în diametru, cu suprafața mic-celulară, de culoare cafenie-deschisă arpoape albă sau albastră, cenușie, neagră-cenușie.

Produs vegetal toxic.

Caractere microscopice: pe secțiunea transversală prin capsulă se evidențiază epicarpul cu stomate rare. În mezocarp fascicule libero-lemnoase, protejate de un periciclu fibros și însoțite de numeroase laticifere.

- **Produse vegetale cu conținut de alcaloizi indolici**

PASSIFLORAE INCARNATAE HERBA – părți aeriene de pasifloră

Planta producătoare: ***Passiflora incarnata*** L. – pasifloră

Fam. **Passifloraceae**

Caractere macroscopice: tulpini cilindrice, fistuloase, cu lungimea de până la 50 cm, grosimea 1-4 mm. Frunzele pețiolate, lat-eliptice, tripartite, lungimea și lățimea frunzelor în limitele 6-16 cm. Lobii frunzei alungiți sau lat-eliptici, vârful acuminat, pe margine slab dințați, pe nervuri slab păroși. Culoarea frunzelor verde-deschisă sau verde-gălbuie. Flori solitare, mari, cu pedunculi lungi și două bractee. Periantul dublu: caliciul din 5 sepale coriacee, lanceolate, cu excrescențe aciculare la vârf; corola dialipetală (din 5), cafenie-deschisă. Între petale și stamine câteva rânduri de excrescențe filiforme de culoare violetă-cafenie, care formează coronula. Stamine în număr de 5, concrescute într-un tub lung, ovarul superior, unilocular, cu 3 coloane. Fructul o bacă ovală, care se întâlnește rar în produsul vegetal.

Miros slab, caracteristic. Toxic.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 81)*. Celulele ambelor epiderme au conturul slab sinuos; pe nervuri – poligonale, alungite. Se întâlnesc fragmente unde celulele epidermei au pereții celulari vizibil îngroșați. Stomatele, mai frecvente pe fața inferioară, sunt ovale, înconjurate cu 3-5 celule. Pe suprafața frunzei, mai des pe cea inferioară, se întâlnesc numeroși peri tectori din 1 sau 2-4 celule. Celula bazală a perișorului, deseori cu un conținut sub formă de picături mici, se colorează cu sudan III în roșu-portocaliu. Celula bazală a perișorului scurtă, cu membrană îngroșată, iar la căderea lui, în locul fixării, se observă un cilindru, în jurul căruia cuticula formează striuri radiale. Țesutul lacunar are caracter de aerenchim. Pe nervuri, într-un număr mare, se identifică druze de oxalat de calciu.

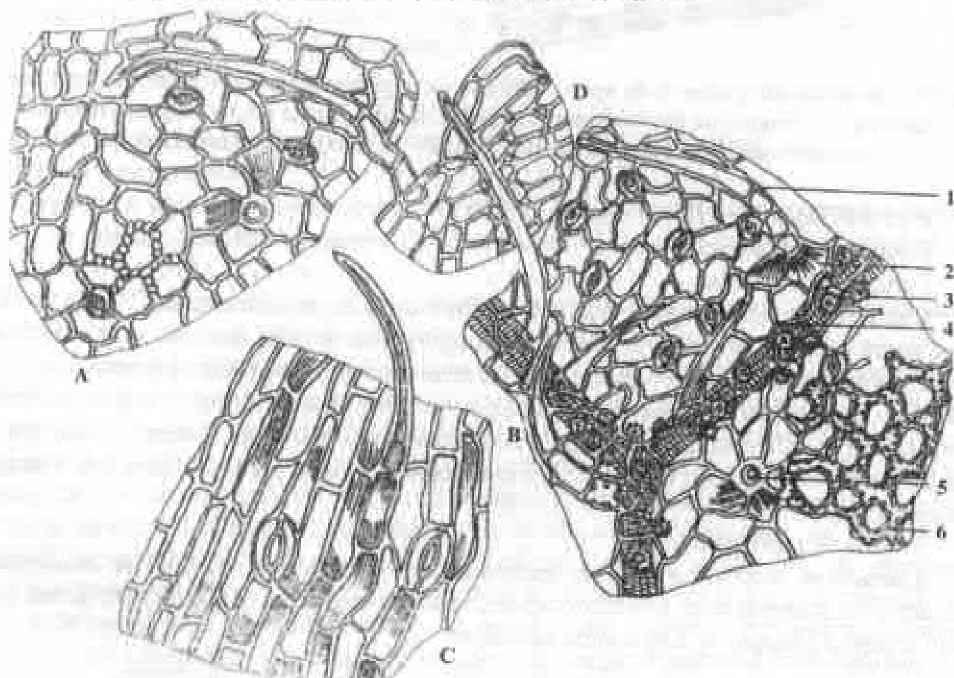


Fig. 81. **Preparat superficial din frunză de pasifloră (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *C* – epiderma pețiolului; *D* – epiderma marginii frunzei. *1* – peri tectori; *2* – cuticulă încrețită; *3* – druze de oxalat de calciu; *4* – îngroșări ale membranelor celulare; *5* – locul de fixare a perișorului; *6* – țesut lacunar

RAUWOLFIAE RADICES – rădăcini de rauvolfie

Plante producătoare: ***Rauwolfia serpentina*** L., ***R. vomitoria***, ***R. canescens*** – rauvolfie

Fam. **Apocynaceae**

Caractere macroscopice: fragmente cilindrice sau conice, drepte sau recurbate, rugoase, striate longitudinal. Fractura este netedă şi pulverulentă; lungimea 10-15 cm, diametrul 1-2 cm.

Culoarea galbenă-cenuşie sau cafenie la exterior şi alb-gălbuie în interior. Produs toxic.

Caractere microscopice: secţiunea transversală prin rădăcină se caracterizează prin structură secundară, cu cilindrul central mult mai dezvoltat decât scoarţa.

SECALE CORNUTUM – cornul-secării

Produsă de: ***Claviceps purpurea*** (Fr.ies.) (Tulasne)

Fam. **Clavicepitaceae**

Produsul vegetal prezintă scleroţii ciupercii cornul-secării, care parazitează în ovarele unor plante din familia *Poaceae*, frecvent pe secară (*Secale cereale* L.).

Caractere macroscopice: scleroţi cu grosimea de 2-5 mm, lungimea 1-3 cm, fusiformi, triedrici, îngustaţi către ambele vârfuri, adescori cu fisuri longitudinale, mai rar transversale. Culoarea scleroţilor la exterior este cafenie-violetă, mată, în fractură – albă-cenuşie, albă-gălbuie sau violetă-pal cu un chenar violet-cafeniu îngust. Scleroţii sunt fragili şi nu se îndoaie (produs vegetal bine uscat).

Gust uleios, neplăcut, miros slab. Toxic.

Caractere microscopice: secţiune transversală prin sclerot *(fig. 82)*. Marginal se observă un chenar violet-cafeniu sau cafeniu-întunecat, în partea centrală o structură microcelulară uniformă, deschisă. Chenarul întunecat, partea pigmentată, constă din două straturi: extern, în unele locuri descuamat, din câteva rânduri de hife cu pereţii cafenii, iar cel intern formează un inel neîntrerupt din câteva rânduri de hife bine compresate, cu membrane groase de culoare violet-cafenie. Partea centrală a sclerotului uniformă, din hife împletite, care în secţiune au formă rotundă, poligonală sau ovală.

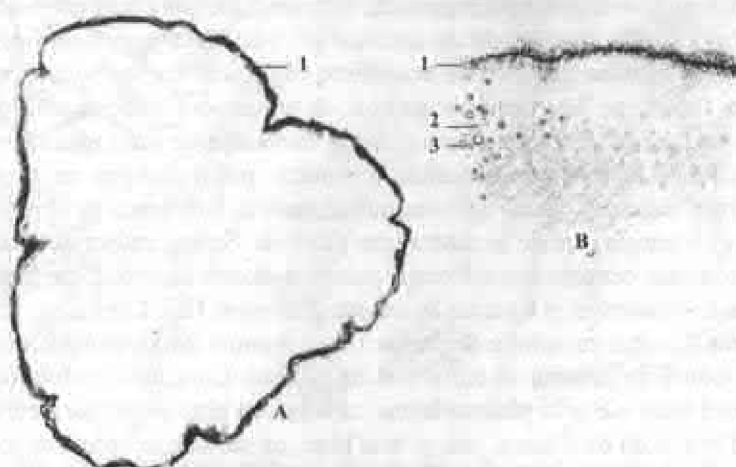


***Fig. 82.* Secţiune transversală prin sclerotul de cornul-secării:** *A* – schema secţiunii transversale (cu lupa); *B* – fragment al secţiunii transversale (x280). *1* – strat pigmentat; *2* – hife; *3* – picături de ulei gras

Membranele hifelor subţiri, incolore, bogate în ulei gras, se vizualizează bine după încălzirea preparatului, când picăturile de ulei se scurg din hife şi se adună în picături mai mari. La colorare cu sudan III, uleiul gras capătă o culoare roşie-portocalie. La tratarea cu soluţie de clor-zinc-iod (reactiv pentru celuloză) se observă o coloraţie galbenă a hifelor, celuloza ciupercilor, spre deosebire de celuloza plantelor superioare care se colorează cu acest reactiv în violet.

Pulberea cornului-secării are culoarea violetă-cenuşie. La microscop se observă structură identică ca şi pe secţiunea transversală a sclerotului. Uneori se întâlnesc fragmente de hife în direcţia longitudinală, ovale pe secţiunea transversală. Se observă multe globule de ulei gras. La fierbere cu soluţie de bază, pseudoparenchimul sclerotului se descompune în hife separate.

STRYCHNI SEMINA – seminţe de nucă-vomică

Planta producătoare: ***Strychnos nux vomica*** L. – nucă-vomică

Fam. **Loganiaceae**

Caractere macroscopice: seminţe de formă rotundă, cu diametrul de 1,5-2,5 cm, aplatisate sub formă de nasture, cu grosimea de 3-6 mm; o parte uşor concavă, alta puţin convexă, marginea îngroşată. Culoarea seminţei cenuşie-gălbuie; suprafaţa lucitoare, mătăsoasă datorită perilor lipiţi, orientaţi într-o singură direcţie – de la centru spre periferie. În centrul părţii convexe a seminţei se află o ridicătură mică, de la care pleacă radial un cilindru format din vârfurile perilor dispuşi de ambele părţi. Sămânţa dură se poate secţiona doar după înmuierea prealabilă. Endospermul constituie partea principală a seminţei. Embrionul, situat în fisura endospermului, constă dintr-o radiculă cilindrică cu o mică îngroşare la vârf, îndreptată spre marginea seminţei, şi din două cotiledoane în formă de foliole subţiri-ovate, cu vârful ascuţit, cu 5 nervuri; cotiledoanele se acoperă unul pe altul şi sunt îndreptate către centrul seminţei.

Produsul vegetal nu are miros, este otrăvitor.

Caractere microscopice: secţiune transversală prin sămânţă *(fig. 83)*. Perii de pe suprafaţa seminţei constau dintr-o bază dilatată sub formă de bulb, cafeniu-deschis, acoperit cu o membrană puternic îngroşată, străpunsă de pori şi dintr-o concrescenţă care pleacă de la bază sub un unghi de aproape 45° (de aceea perii sunt lipiţi de suprafata seminţei). Membrana perilor este neuniform îngroşată, cu pori sub formă de fisuri foarte înguste, întinse pe lungimea perişorului, de aceea perii se despind uşor în fibrile. Membrana bazei perilor este lignificată (reacţia cu soluţie de fluoroglucină şi acid clorhidric concentrat). Endospermul din celule compacte, puţin alungite pe rază, cu pereţi celulari puternic îngroşaţi şi cu un conţinut granulos. Grosimea pereţilor celulari ai endospermului se micşorează de la centru spre periferie. Stratul extern din celule înguste, alungite, cu conţinut cenuşiu-brun. Pereţii externi puternic îngroşat, iar straturile exterioare cutinizate (coloraţie la tratarea în soluţie de sudan III). Celulele endospermului conţin ulei gras (reacţia cu soluţie de sudan III) şi granule de aleuronă (tratate cu soluţie de iod în iodură de potasiu se colorează în galben). Conţinutul celulelor endospermului comunică între ele prin plasmodesme care se văd bine pe preparatele colorate cu soluţie de iod în iodură de potasiu sau, şi mai bine, cu soluţie alcoolică de iod.

Pulberea are culoare cenuşie-gălbuie. La microscop se văd bazele bulbiforme şi fibrilele perilor *(fig. 84)*. Sunt caracteristice fragmente de endosperm cu membrane

albe-groase şi conţinut cenuşiu-granulos în care picăturile de ulei gras se colorează cu sudan III în roşu-portocaliu.

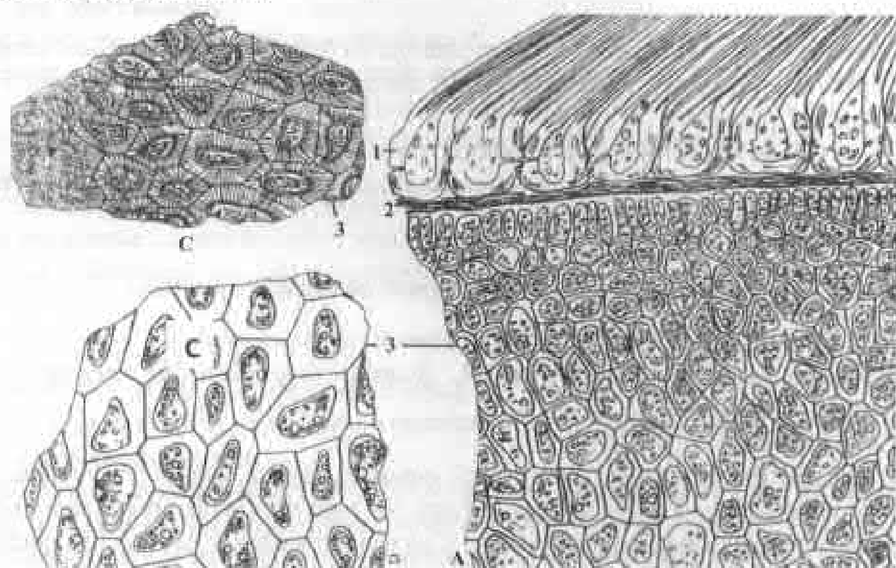


Fig. 83. **Secţiune transversală prin sămânţa de nucă-vomică (x280):** *A* – partea exterioară; *B* – straturile interne ale endospermului; *C* – plasmodesme (colorarea cu soluţie de iod). *1* – peri; *2* – spermodermă cu straturile comprimate; *3* – celulele endospermului

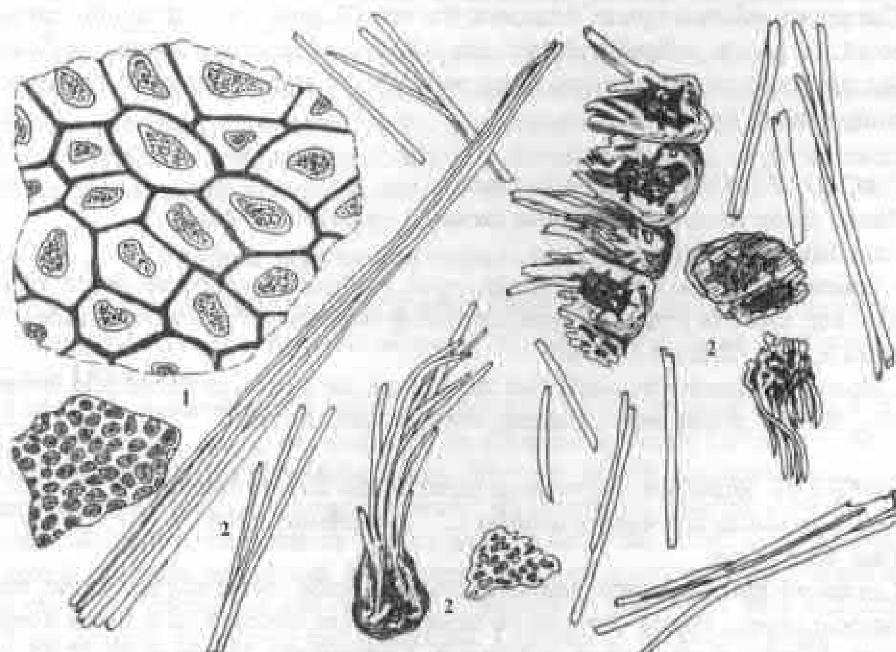


Fig. 84. **Elementele pulberii din sămânţa de nucă-vomică (280):**
1 – fragmente de endosperm; *2* – fragmente de peri

VINCAE MINORIS HERBA – părți aeriene de saschiu

Planta producătoare: ***Vinca minor*** L. – saschiu

Fam. **Apocynaceae**

Caractere macroscopice: tulpini cilindrice, cu frunze opuse, coriacee, lucioase, scurt pețiolate, eliptice sau lanceolate, glabre, marginea întreagă, culoarea verde. Florile sunt solitare, pentamere, albastre.

Caractere microscopice: pe secțiunea transversală a frunzei mezofilul este heterogen asimetric, cu fasciculul libero-lemnos concentric, protejat de un periciclu fibros cu druze de oxalat de calciu.

- **Produse vegetale cu conținut de alcaloizi purinici**

THEAE FOLIA – frunze de ceai-chinezesc

Planta producătoare: ***Thea sinensis*** L. (Kuntze) *(syn. Camellia sinensis* L. – arbore de ceai-chinezesc.

Fam. **Theaceae**

Caractere macroscopice: frunze mici, coriacee, eliptice, dințate pe margini, scurt pețiolate, lungimea 8-15 cm și lățimea 7-8 cm. Nervura principală proeminentă pe fața inferioară, cele secundare puțin evidente. Culoarea produsului depinde de procedeul de prelucrare:

- ceaiul verde – se obține prin stabilizare și uscare rapidă, la temperatură ridicată.
- ceaiul negru – se obține prin fermentare la temperatura de 23-25 °C în atmosferă umedă, urmată de uscare.

Caractere microscopice: secțiunea trasversală prezintă o structură heterogen-asimetrică, cu țesutul palisadic alcătuit din 3-4 rânduri de celule scurte. Fasciculul libero-lemnos colateral și înconjurat de un periciclu. Pe ambele epiderme se găsesc peri tectori unicelulari, lignificați.

CACAO SEMINA – semințe de cacao

Planta producătoare: ***Theobroma cacao*** L. – arborele-de-cacao

Fam. **Sterculiaceae**

Caractere macroscopice: semințe ovoide, aplatisate, acoperite de un tegument subțire și dur, aspre la pipăit. La baza semințelor se observă o mică depresiune – **hilul.** Lungimea 2,5 cm, lățimea 1-1,5 cm.

Culoarea produsului proaspăt este alb-gălbuie, iar a celui prelucrat prin fermentare brun-roșcată. Gust plăcut, uleios, dulceag, miros aromat, de cacao.

COFFEAE SEMINA – semințe de cafea cu sau fără tegument

Planta producătoare: ***Coffea arabica*** L. – arborele-de-cafea

Fam. **Rubiaceae**

Caractere macroscopice: semințe netede, lucioase, ovale sau reniforme, rotunjite la ambele capete. Partea convexă cu striații, iar cea concavă cu o fisură longitudinală (linia hilară) ce pătrunde în endosperm. Semințele au lungimea de 10-15 mm și grosimea de 6-8 mm.

Culoarea cafenie, mirosul aromat, iar gustul slab amar și astringent.

COLAE SEMINA – semințe de cola, nuci de cola
Planta producătoare: ***Cola nitida*** (Vent.) A. Chev. *(syn. Cola vera, Cola acuminata)*
Fam. **Sterculiaceae**

Caractere macroscopice: cotiledoanele, deformate prin presiune reciprocă în fruct, sunt, de obicei, ovale, trapezoidale sau triunghiulare; fața internă plată, ușor concavă, iar cea externă bombată. Semințele au lungimea de 2-4 cm și lățimea de 2-3 cm.

Culoarea brun-deschisă la exterior și brun-roșcată la interior. Gustul astringent, amărui. Mirosul lipsește.

Caractere microscopice: pe secțiunea transversală a seminței, epiderma din celule poligonale cu peri rari pluricelulari, urmată de parenchimul din celule cu pereții subțiri, de culoare cafenie, pline cu granule de amidon.

- **Produse vegetale cu conținut de alcaloizi diterpenici**

ACONITI TUBER – tuberculi de omag
Planta producătoare: ***Aconitum soongoricum*** Stapf; ***A. karakolicum*** Rapcs. – omag
Fam. **Ranunculaceae**

Caractere macroscopice: tuberculi solitari sau concrescuți câte 2-3 în lanț; forma conică și alungit-conică, suprafața de culoare cafenie-închisă, cu striuri puternic longitudionale și caneluri adânci; în partea superioară canelurile au alte direcții decât longitudinale, chiar transversală, formând inele. La vârful tuberculului (partea lată a conului) se observă cicatricea tulpinii înlăturate și mugurele lateral – locul de fuziune cu alți tuberculi, pe toată suprafața – urmele rădăcinilor subțiri înlăturate. Fractura este netedă, culoarea albă-cenușie cu măduvă de nuanță gălbuie. Lungimea tuberculului 3-6 cm, grosimea la vârf 1-2,5 cm.

Mirosul lipsește. Gustul nu se identifică. Produs vegetal foarte toxic.

Caractere microscopice: secțiunea transversală prin regiunea mediană a tuberculului prezintă un parenchim redus. Caracteristic este cambiul în formă de stea, în ale cărui vârfuri se găsește lemnul dispus în formă de litera V; în partea exterioară se află liberul format din numeroase grupe mici de vase ciuruite.

- **Produse vegetale cu conținut de alcaloizi steroidici**

VERATRI RHIZOMATA CUM RADICIBUS – rizomi cu rădăcini de strigoaie
Planta producătoare: ***Veratrum album*** L., ***V. lobelianum*** Bernh. – strigoaie
Fam. **Liliaceae**

Caractere macroscopice: rizom vertical de 1,5-3 cm grosime și circa 8 cm lungime, conic alungit, întreg sau secționat, longitudinal mărunțit. La exterior de culoare cafenie-întunecată, în fractură albă-cenușie. Fractura, netedă sau granuloasă, produce pulbere datorită prezenței amidonului. Rizomul are numeroase rădăcini, grosimea 2-3 cm, lungimea 10-20 mm, suprafața de culoare galbenă-deschisă, striată și cu gropițe, fractura netedă sau puțin granuloasă. Examinarea prin lupă a secțiunii transversale a rizomului pune în evidență locurile de fixare a rădăcinilor sub forma unor adâncituri rotunde sau alungite de culoare mai întunecată. La exterior se observă stratul cafeniu al hipodermei, după care urmează scoarța albă sau cenușie în care se află uneori fascicule conducătoare, inelul neregulat, întunecat al endodermului, iar în cilindrul central se observă numeroase fascicule conducătoare.

Produsul vegetal este foarte toxic, provocând excitarea mucoaselor.

Caractere microscopice: secțiune transversală prin rădăcină *(fig. 85)*. Rădăcina are structură primară. La exterior este rizoderma, dintr-un strat de celule mici, care aderă la parenchimul scoarței, alcătuit din 2-4 rânduri de celule. Celulele parenchimului formează filamente radiale din 1-3 straturi cu cavități aeriene mari (aerenchim).

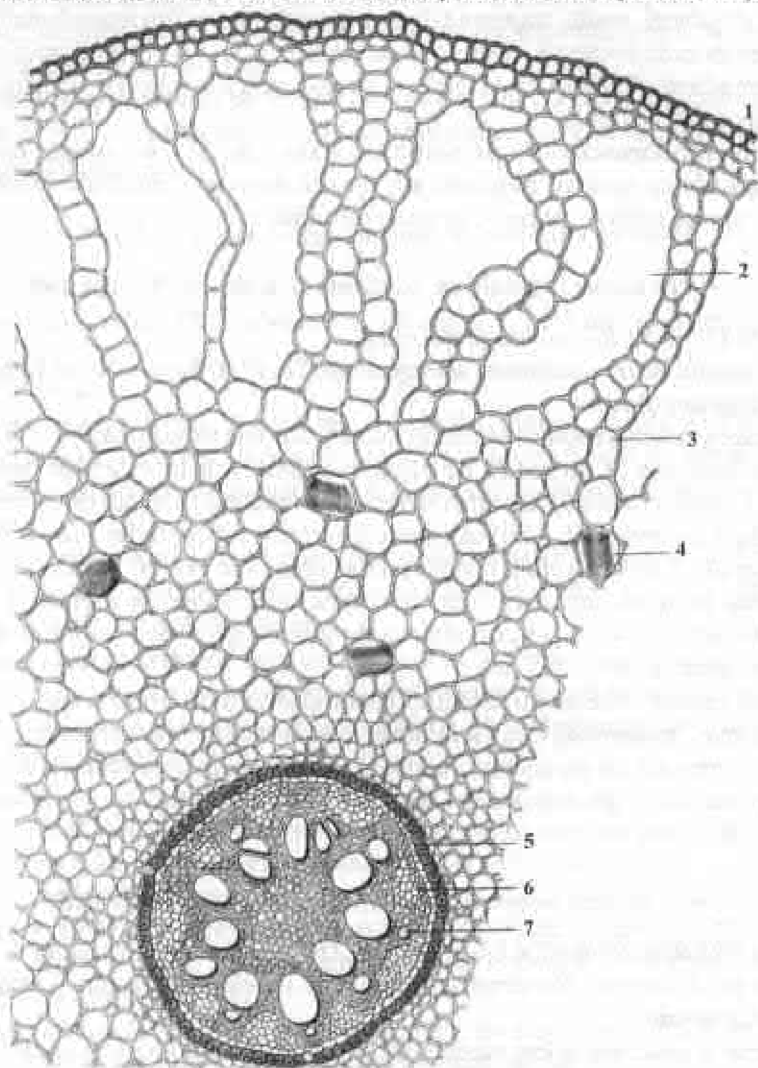


***Fig. 85.* Secțiune transversală prin rădăcina de strigoaie (x280):** *1* – rizodermă; *2* – aerenchim; *3* – parenchimul mezodermei; *4* – rafide de oxalat de calciu; *5* – endoderma; *6* – liber; *7* – lemn

Straturile interne ale scoarței sunt mai dense. Celulele parenchimului sunt bogate în amidon, în unele se întâlnesc rafide de oxalat de calciu. Granulele de amidon pot fi simple sau compuse, rotund-ovate, centrice, cu mărimea de 3-18 µm. În endoderm sunt celule cu pereții celulari îngroșați în formă de potcoavă, de culoare galbenă și celule cu pereți subțiri. În cilindrul central, periciclul este reprezentat printr-un strat de celule mici, cu pereți subțiri, ușor alungite în direcție tangențială.

Liberul și lemnul sunt dispuse radial: între razele lemnului se află porțiuni de liber ovale sau sub formă de semicerc (în număr de 10-15), din celule mici, cu pereții subțiri – elementele conducătoare ale liberului și parenchimului. Vasele lemnoase mai mari formează inele, deasupra vaselor mari se află 1-2 vase mai mici. Vasele sunt înconjurate de celule mici, alungite, cu pereții ușor îngroșați și lignificați. În centru – o porțiune nu prea mare de măduvă, din celule cu pereții celulari celulozici, ușor îngroșați.

- **Produse vegetale cu conținut de alcaloizi aciclici și cu azotul în catena laterală**

EPHEDRAE HERBA – părți aeriene de cârcel

Planta producătoare: ***Ephedra: E. distachya*** L., ***E. helvetica*** Meyer, ***E. sinica*** Stapf., ***E. vulgaris)*** – cârcel

Fam. **Ephedraceae**

Caractere macroscopice: produs din tulpini și ramuri verzi, cu noduri și internoduri, striate longitudinal. Nodurile cu frunze opuse, reduse la solzi mici, reuniți într-o teacă ce acoperă o treime din lungimea nodului.

Culoarea produsului verde-cenușie, gustul astringent și ușor camforat. Produsul este toxic.

CAPSICI FRUCTUS – fructe de ardei-iute

Planta producătoare: ***Capsicum annuum*** L., ***C. fruoescens*** L. – ardei-iute (ardei-roșu, paprică).

Fam. **Solanaceae**

Caractere macroscopice: bace lucioase, conice, alungite, uneori curbate și zbârcite, la bază se găsește pedunculul și caliciul persistent, cu 5 lobi. Bacele sunt despărțite în 2-3 loje de placente spongioase cu numeroase semințe discoidale sau lenticulare, cu lungimea de 8-13 cm și diametrul de circa 4 cm. Culoarea este roșie sau portocalie la exterior, iar la interior galbenă.

Gustul iute arzător, mirosul caracteristic, pulberea inhalată este iritantă.

Caractere microscopice: pe secțiunea transversală prin fruct se distinge la exterior epicarpul, urmat de țesutul parenchimatic colenchimatos cu numeroase cromoplaste globuloase roșii-portocalii (capsantină). Mezocarpul conține fascicule libero-lemnoase dispuse circular, iar endocarpul este format dintr-un singur rând de celule cu pereții subțiri, alternând cu celule cu pereții sclerificați (celule cerebroide).

COLCHICI SEMINA, C. BULBUS – semințe și bulbi de brânduș- de-toamnă

Planta producătoare – ***Colchicum autumnale*** L. – brândușă-de-toamnă

Fam. **Liliaceae**

Caractere macroscopice: bulbii se prezintă sub forma unor rondele compacte, dure, circulare, alb-cenușii, cu mici asperități. Semințele sunt mici, dure, globuloase, fin punctate, cu o mică creastă în jurul hilului. Diametrul 1,5-2,0 mm.

Culoarea brun-închis, gustul amar astrigent. Toxic.

3.10.2. Analiza chimică

Proprietăți fizico-chimice. Majoritatea alcaloizilor sunt compuși optic activi, cu un anumit unghi de rotație, fără miros, gust amar, cu o temperatură exactă de topire și fierbere. Practic insolubil în apă și solvenți organici (cloroform, eter etilic, dicloretan), la încălzire se dizolvă în alcool etilic diluat. Alcaloizii, în componența cărora intră oxigenul, sunt, de obicei, substanțe cristaline, iar cei care nu conțin oxigen reprezintă adeseori lichide uleioase volatile. Alcaloizii steroizi sunt, de regulă, substanțe cristaline ce se cristalizează bine din alcool etilic de 80 %. Se întâlnesc și alcaloizi amorfi, de exemplu solanocapsidina. Drept urmare a prezenței atomului de azot, alcaloizii steroizi posedă proprietăți bazice și pot forma săruri. Sărurile majorittii alcaloizilor sunt substanțe amorfe, în afară de cristalinul clorhidrat de solanină a cărui temperatură de topire e de 212 °C (cu descompunere). Ca și sărurile altor alcaloizi, sărurile glicoalcaloizilor se dizolvă în apă.

Alcaloizii sunt substanțe incolore, cu unele excepții: berberina, serpentina, heleritrina – au culoare galbenă; sangvinarina – portocalie. Unii alcaloizi, la lumina ultravioletă, manifestă luminiscență caracteristică. La diferiți alcaloizi, proprietățile bazice se manifestă în grad diferit. În natură se întâlnesc alcaloizii care după structură se clasifică la amine terțiale, mai rar la cele secundare, și la compuși cuartenari de amoniu. Constantele de disociere ale alcaloizilor variază în limite mari: de la $1{\cdot}10^{1}$ până la $1{\cdot}10^{12}$ și mai mult, astfel de alcaloizi formând săruri. Alcaloizii cu constanta de disociere mică (cafeina, colchicina) nu formează săruri stabile. Sunt cunoscute săruri ale alcaloizilor care se dizolvă slab în apă (sulfat de chinină) și care se dizolvă în solvenți organici (hidrobromidul de scopolamină se dizolvă în cloroform).

Alcaloizii se conțin în plante sub formă de săruri dizolvate în sucul celular, legate de acizii organici. Cei mai răspândiți alcaloizi sunt: acidul oxalic (HOOC-COOH), acidul malic ($HOOC\text{-}CH_2\text{-}CH(OH)\text{-}COOH$), acidul citric ($HOOC\text{-}CH_2\text{-}C(OH)(COOH)\text{-}CH_2\text{-}COOH$), acidul tartric (HOOC-CH(OH)-CH(OH)-COO) etc. În unele plante, alcaloizii se leagă cu acizii organici caracteristici plantelor dintr-o anumită familie sau unei specii de plante. De exemplu, acidul meconic este caracteristic macului-de-grădină; acidul chininic – arborelui-de-chinină. Unii alcaloizi sunt legați cu acizii anorganici – sulfuric, fosforic (macul-de-grădină).

Alcaloizii steroizi se supun hidrolizei fermentative și acide. Hidroliza bazică se efectuează rar, deoarece unii alcaloizi sunt stabili față de bazele alcaline. De exemplu, solanina e stabilă față de baza alcalină, însă la încălzirea cu HCl diluat se descompune în solanidină (aglicon) și 3 molecule de zahăr: D-glucoza, D-galactoza, L-ramnoza.

Metode de izolare. În majoritatea cazurilor, extragerea alcaloizilor din produsul vegetal decurge în 3 etape:

1. *Extragerea alcaloizilor din produsul vegetal.*
2. *Purificarea extractului.*
3. *Separarea alcaloizilor și purificarea lor.*

1. Extragerea alcaloizilor din produsul vegetal. Alcaloizii pot fi extrași din produsul vegetal sub formă de bază și săruri.

Extragerea alcaloizilor sub formă de bază. Alcaloizii se află în produsul vegetal sub formă de săruri și înainte de extragere este necesară transformarea lor în bază prin tratarea produsului vegetal cu diferiți hidroxizi: NH_4OH, NaOH, $Ca(OH)_2$, $Ba(OH)_2$. La alegerea hidroxidului se i-au în considerare proprietățile alcaloizilor. Hidroxizii puternici (NaOH) se folosesc la izolarea alcaloizilor care se conțin în produsul vegetal

sub formă de compuşi stabili cu substanţele tanante (scoarţa arborelui-de-chinină, scoarţa de rodie) şi nu se folosesc la izolarea alcaloizilor, ce conţin în molecule hidroxili fenolici. Astfel de alcaloizi cum sunt morfina, salsolina, unii alcaloizi ai cornului-secării, în urma formării fenolaţilor nu se extrag cu solvenţi organici, deoarece fenolaţii se dizolvă bine în apă şi sunt insolubili în solvenţi organici.

Pentru a trece sărurile în bază se utilizează, de obicei, amoniacul. La izolarea alcaloizilor cu legături esterice (atropină, hiosciamină, scopolamină) se folosesc baze slabe, cele puternice putând provoca descompunerea alcaloizilor. NaOH nu se utilizează la izolarea alcaloizilor din seminţe cu conţinut de uleiuri grase – bazele alcaline provoacă saponificarea grăsimilor, iar produsele saponificate favorizează formarea emulsiilor.

În cazul utilizării carbonatului de sodiu este necesar de a înlătura complet acidul carbonic (prin agitare), deoarece acesta, reacţionând cu alcaloizii, poate forma săruri, care vor duce la extragerea incompletă a alcaloizilor.

Extragerea alcaloizilor sub formă de bază se efectuează cu diferiţi solvenţi organici. Pentru extragerea completă se alege un solvent cu proprietatea de a dizolva bine alcaloizii. Cel mai des se folosesc: dicloretanul, cloroformul, eterul etilic, benzenul. Împreună cu alcaloizii se extrag şi substanţele asociate cum ar fi: răşinile, uleiurile grase, clorofila şi alţi pigmenţi, de care alcaloizii urmează să fie separaţi.

Extragerea alcaloizilor sub formă de săruri. Majoritatea sărurilor alcaloizilor se dizolvă în apă şi alcool (etilic şi metilic), şi de aceea la extragerea lor sub formă de săruri se utilizează unul dintre solvenţii menţionaţi mai sus, care conţin 1-2 % de acid. Se folosesc, de obicei, acizii: sulfuric, clorhidric, tartric, acetic etc., care formează cu alcaloizii săruri solubile bine în apă şi alcool. Extragerea se desfăşoară rapid şi complet. Împreună cu alcaloizii se extrag multe substanţe asociate (taninuri, mucilagii, saponozide, proteine).

2. Purificarea extractului. Purificarea extractului este bazată pe stabilitatea diferită a bazelor şi sărurilor alcaloizilor:

- Extractul alcaloizilor, obţinut în urma extragerii bazice cu ajutorul solventului organic (ce nu se amestecă cu apă), se tratează cu un acid de 1-5 %. Bazele alcaloizilor cu acizii formează săruri care, fiind bine solubile în apă, trec în stratul de apă, iar cantitatea esenţială de substanţe asociate rămâne în solventul organic. La soluţia apoasă de săruri ale alcaloizilor se adaugă bază alcalină, pentru a transforma alcaloizii în bază. Dacă cantitatea de alcaloizi e mare, bazele alcaloizilor se sedimentează; precipitatul poate fi colectat de pe filtru. Extractele, după prelucrarea cu bază, se tratează mai des cu un solvent organic ce nu se amestecă cu apa. Alcaloizii sub formă de bază trec în solventul organic. Dacă e necesar, aceste operaţii se repetă de două sau mai multe ori pentru ca separarea de substanţele asociate să fie mai completă. Solventul organic se înlătură prin evaporare. Reziduul, obţinut după evaporare, reprezintă un amestec de alcaloizi.
- Extractul de alcaloizi, obţinut după extragerea cu soluţia de acid 1-2 %, se tratează cu bază, iar bazele alcaloizilor se extrag cu un solvent organic. Dacă alcaloizii au fost extraşi cu alcool (etilic, metilic), alcoolul se înlătură prin evaporare, iar reziduul se dizolvă în apă. Sărurile alcaloizilor se dizolvă în apă, iar partea substanţelor asociate, care nu s-au dizolvat în apă, se înlătură prin filtrare. Soluţia apoasă, ce conţine sărurile alcaloizilor, se supune procesului de purificare descris mai sus.

Purificarea extractelor prin metoda cromatografică în coloană

Cromatografia prin absorbție se bazează pe absorbția selectivă a uneea sau câtorva substanțe din soluție sau din amestecul gazos de corpuri solide – sorbantul (absorbantul). Metoda cromatografică de purificare și separare a alcaloizilor este aplicabilă și soluțiilor apoase de săruri ale alcaloizilor și soluțiilor de baze ale alcaloizilor în solvenți organici. Procesele de absorbție se aplică în industria chimicofarmaceutică și se împart în două grupe:

- procese de purificare în timpul cărora impuritățile (substanțele asociate) se absorb, iar alcaloizii rămân în soluție;
- procese de purificare în care se absorb alcaloizii, iar substanțele însoțitoare rămân în soluție.

Se delimitează două tipuri de absorbție: moleculară și cu schimb de ioni. În primul caz are loc trecerea moleculei substanței dizolvate din faza mobilă în cea imobilă. Absorbția se produce la suprafața sorbantului solid fără reacție chimică. În al doilea caz are loc schimbul de ioni ai substanței dizolvate cu ionii sorbantului. Astfel, cromatografia cu schimb de ioni permite purificarea alcaloizilor prin procesul cu schimb de ioni între substanța dizolvată și sorbanții cu schimb de ioni. Acești sorbanți, după natura lor pot fi minerali și organici, iar după caracterul ionilor – anioniți și cationiți. Extractele obținute se lasă să treacă prin coloana plină cu sorbant. Sorbantul și condițiile de absorbție trebuie să fie alese astfel încât absorbția substanței extrase să fie selectivă și maximală. Desorbția alcaloizilor se face cu un solvent potrivit, ce asigură eluția maximă.

3. Separarea alcaloizilor și purificarea lor. În produsul vegetal, se află, de obicei, mai mulți alcaloizi care, după prelucrarea produsului vegetal, trec toți sau majoritatea în extract. Separarea unui alcaloid „necesar" și, mai ales, separarea amestecului de alcaloizi în compuși individuali, este dificilă. Deși, sunt descrise numeroase metode de separare a amestecului de alcaloizi, o schemă unică nu există, majoritatea având proprietăți fizice și chimice diferite.

- *Separarea totalului alcaloizilor pe baza solubilității diferite în solvenți organici*

– În unele cazuri, separarea parțială a alcaloizilor are loc deja la tratarea extractului apos-acid după ce se adăugă bază cu solvent organic. La tratare cu eter etilic, în solventul organic pot trece numai o parte din alcaloizi, iar cei rămași în extractul inițial pot fi extrași cu alți solvenți organici (cloroform, dicloretan). Uneori această metodă poate da rezultate bune. De obicei, la alcaloizii unei plante deosebirea în solubilitate nu e pronunțată și se realizează doar separarea parțială, cu repetarea operației sau cu aplicarea altor metode de separare.

– La tratarea succesivă a reziduului (totalul alcaloizilor), la înlăturarea solventului cu diferiți solvenți organici (eter de petrol, benzen, cloroform etc.) în unele cazuri se obține separarea parțială a alcaloizilor.

- *Separarea totalului alcaloizilor după puterea bazică diferită*

– Dacă la soluția apoasă a sărurilor alcaloizilor cu proprietăți bazice diferite se adaugă o bază alcalină în cantitate insuficientă pentru a trece toate sărurile alcaloizilor în bază, atunci în reacție vor intra, în primul rând, sărurile alcaloizilor cu proprietăți bazice slab pronunțate, iar bazele mai puternice vor rămâne sub formă de săruri.

La tratarea acestei soluții cu un solvent organic, bazele alcaloizilor formate vor trece în stratul solventului organic, iar sărurile alcaloizilor cu proprietăți bazice mai

pronunțate vor rămâne în stratul apos. Apoi la soluția apoasă se adaugă o cantitate insuficientă de baza alcalină și soluția va fi tratată din nou cu un solvent organic. Evacuate din săruri, bazele puternice ale alcaloizilor trec în solventul organic. La stratul apos rămas se adaugă din nou bază alcalină, până la trecerea completă a sărurilor alcaloizilor în baze libere.

Astfel, alcaloizii cu proprietăți bazice mai slabe se vor afla în primele porțiuni ale solventului organic, iar cei cu proprietăți bazice mai puternice – în ultimele.

– Una dintre cele mai răspândite metode de separare a alcaloizilor este extragerea acidă cu acizi diluați și sedimentarea ulterioară cu amoniac. Dacă la soluția amestecului de baze ale alcaloizilor în solvent organic se adaugă o cantitate insuficientă de acid, în reacție cu acidul vor intra în primul rând alcaloizii cu proprietăți bazice mai pronunțate, iar bazele mai slabe vor rămâne în stare liberă. Se folosește acidul sulfuric diluat, soluții de 0,5-2 % ale acizilor azotic și ortofosforic, soluția de 2 % a acidului metafosforic rece, acidul acetic de 5 % etc.

Așadar, după extragerea fracționată a alcaloizilor din soluție în solventul organic cu cantități mici de acid, ca și la tratarea fracționată cu bază alcalină, pot fi obținute fracțiuni în care alcaloizii se grupează după „puterea bazică" – în primele fracțiuni se vor colecta bazele puternice ale alcaloizilor, în următoarele – cele mai slabe. Separarea după acest principiu nu este completă și necesită tratarea fracțiunilor concentrate.

- *Separarea totalului de alcaloizi pe calea obținerii sărurilor sau altor derivați*

La tratarea totalului de alcaloizi cu un oarecare reactiv numai o parte sau chiar numai un singur alcaloid intră în reacție. De exemplu, astfel se pot separa alcaloizii fenolici și nefenolici (emetină, cefelină). Un amestec de alcaloizi destul de compus se poate separa pe calea obținerii diverselor săruri ale alcaloizilor (hidrocloruri, hidrobromuri, oxalați, ioduri, picrați etc.) cu recristalizarea lor ulterioară.

- *Separarea totalului alcaloizilor prin metoda cromatografică*

Această metodă se aplică atât la separarea, cât și la purificarea alcaloizilor. La separarea glicoalcaloizilor prin metoda cromatografiei în coloană, în calitate de sorbant, se folosește oxidul de aluminiu cu (2) și (3) grade de activitate după Broukmann, iar eluarea cu amestec de benzen și cloroform. Separarea alcaloizilor se bazează pe proprietatea lor diferită de absorbție. De exemplu, prin metoda cromatografică, dintr-un amestec compus de alcaloizi ai macului-de-grădină poate fi separată morfina, iar din totalul alcaloizilor cârcelului – efedrina. Prin coloana cu sorbantul corespunzător se trece solventul sau extractul ce conține alcaloizi. Desorbția (eluarea) se efectuează cu un solvent sau cu un amestec de solvenți potriviți. Ca urmare, se obțin câteva fracții ce conțin alcaloizi individuali sau un amestec de alcaloizi mai puțin complex. La necesitate, unele fracțiuni pot fi supuse altei cromatografii.

- *Separarea totalului de alcaloizi pe baza temperaturii de fierbere diferite*

În cazul când în amestec sunt alcaloizi volatili, ei pot fi separați pe calea distilării fracționate. De exemplu, coniina și conhidrina (alcaloizii cucutei) se deosebesc după temperatura de fierbere. Distilarea se efectuează, de obicei, la presiune.

Pentru identificare și stabilirea structurii alcaloizilor se aplică pe larg metodele spectroscopice UV, IR, RMP, CLIP.

Analiza calitativă

Identificarea alcaloizilor. Pentru identificarea alcaloizilor și agliconilor lor se folosesc reacțiile de precipitare și de culoare, precum și metode cromatografice de analiză (în straturi subțiri, pe hârtie), spectroscopice, luminiscentă și se i-au în considerare particularitățile alcaloizilor, inclusiv solubilitatea lor în acid și precipitarea la adăugarea bazelor alcaline.

Reacții comune ale alcaloizilor (reacții de precipitare). Reacțiile de sedimentare permit stabilirea prezenței alcaloizilor chiar și în cantități foarte mici și se bazează pe faptul că alcaloizii la interacțiunea lor cu unele substanțe formează compuși insolubili în apă cum ar fi: sărurile metalelor grele, ioduri complexe, acizi complecși și unii compuși organici cu caracter acid. Pentru efectuarea reacțiilor calitative, din produsul vegetal se pregătește, de obicei, un extract acid. După adăugarea reactivilor, în prezența alcaloizilor, imediat sau peste un timp, se formează un sediment. Abundența sedimentului depinde atât de cantitatea alcaloizilor, cât și de sensibilitatea la reactiv. Reacțiile comune formează precipitat și cu alți compuși organici, ce se pot afla în extractele nepurificate (colina, betaina, proteinele, produsele lor de descompunere). Astfel, pentru obținerea rezultatelor exacte, reacțiile comune se efectuează și în extractele purificate.

Întrucât sensibilitatea alcaloizilor față de reactivi este diferită, reacțiile se efectuează cu câțiva reactivi (5-7). Cei mai frecvenți reactivi utilizați sunt:

- *Mayer* (soluție de clorură de mercur în iodură de potasiu);
- *Wagner și Bouchardat* (soluția de iod în iodură de potasiu);
- *Dragendorff* (soluție de nitrat de bismut și iodură de potasiu cu adăugarea acidului acetic);
- *Marme* (soluție de iodură de cadmiu în soluție de iodură de potasiu);
- *soluție de tanină* 10 %;
- *soluții apoase ale acizilor silicowolframic (reactiv Bertrang), fosfowolframic (reactiv Scheibler), fosfomolibdenic în acid azotic (reactiv Sonnenscheim, fosfostibic în acid sulfuric (reactiv Schultze));*
- *săruri ale unor metale grele*: clorură mercurică 5 %; clorură aurică 5,10, 30, 40 %; clorură de platină 5 %;
- *combinații organice*: reactiv *Hager* – acid picric 1 %; reactiv *Ionescu-Matiu* – soluție saturată de acid picric în alcool 5 % cu glicerină; reactiv *Knorr* – acid picrolonic 2 %.

Alcaloizii se mai sedimentează cu colesterol, digitonină, dau reacții de culoare cu p-oxibenzaldehida, cu aldehida anasonică, rezorcină, aldehida formică. De cele mai multe ori se folosește reacția *Albert*: aldehida formică în mediu acid puternic (în prezența glicoalcaloizilor apare culoare roșie).

Pregătirea reactivilor:

1. *Mayer*: 1,358 g diclorură de mercur se dizolvă în 60 ml apă, se adaugă soluție de iodură de potasiu (5 g în 10 ml apă) și volumul se completează cu apă până la 100 ml.
2. *Wagner*: 1,27 g iod se dizolvă în 100 ml soluție de 2 g iodură de potasiu în apă.
3. *Bouchardat*: 1 g iod se dizolvă în 50 ml soluție de 2 g iodură de potasiu în apă.

4. *Dragendorff*: soluția 1. 0,85 g subnitrat de bismut se dizolvă în 40 ml apă și se adaugă 10 ml acid acetic. Soluția 2. 20 g iodură de potasiu se dizolvă în 50 ml de apă. Se amestecă volumele egale de soluțiile 1 și 2. La 10 ml amestec obținut se adaugă 100 ml apă și 20 ml acid acetic.
5. *Marme:* 10 g clorură de cadmiu se dizovă în 100 ml de soluție apoasă fierbinte de iodură de potasiu 20 %.
6. *Soluția de tanin*: 10 g tanin se dizolvă în 90 ml apă și se adaugă 10 ml alcool etilic.
7. *Soluția acidului siliciowolframic*: ($SiO_2 \times 12WO_3 \times nH_2O$): 1 g acid siliciowolframic se dizolvă în apă și volumul se completează până la 100 ml.
8. *Soluția acidului fosfomolibdenic:* ($H_7P(Mo_2O_7)_6 \times H_2O$): 1 g acid fosfomolibdenic se dizolvă în apă și volumul se completează cu apă până la 100 ml.
9. *Soluția acidului fosfowolframic*: ($P_2O_5 \times 12WO_3 \times 42H_2O$): 1 g acid fosfowolframic se dizolvă în apă și se adaugă apă până la 100 ml.
10. *Soluția acidului picric*: [$C_6H_2(OH)(NO_2)_3$]:1,23 g de acid picric se dizolvă în 100 ml apă.
11. *Soluția acidului picrolonic*: [$C_6H_4\ (NO_2) \times \times C_3N_2(OH)(NH_2)(CH_3)$] : 1 g acid picrolonic se dizolvă în apă și volumul se aduce cu apă până la 100 ml.

Reacții specifice ale alcaloizilor (reacții de culoare). Pentru identificarea unui alcaloid individual sau a unui grup de alcaloizi (purificați) în produsul vegetal se efectuează reacții specifice (de culoare) și de microcristalizare.

Alcaloizii din produsul vegetal se extrag cu o soluție de 1-5 % de acid (clorhidric, sulfuric). Extractul acid se tratează cu soluție de amoniac sau de altă bază, apoi alcaloizii se extrag cu un solvent organic (cloroform, dicloretan, eter etilic etc.). Solventul organic se înlătură prin distilare sau prin evaporarea în capsula de porțelan și cu reziduul obținut se efectuează reacțiile specifice. Deseori se utilizează H_2SO_4 și HNO_3 concentrat, de asemenea H_2SO_4 concentrat ce conține formalină (*reactivul Marquis*), H_2SO_4 concentrat cu molibdat de amoniu (*reactivul Frohde)*. La efectuarea reacțiilor de microcristalizare se folosesc: acizii picric și picrolonic, rodanurile și iodurile complexe ale metalelor.

Reacțiile specifice ale alcaloizilor individuali sunt descrise în manualele de chimie farmaceutică și toxicologică.

Pregătirea extractului din produsul vegetal:

- 1 g de produs vegetal mărunțit se pune într-un balon de 100 ml, se toarnă 25 ml de HCl de 1 % și se încălzește 5 min la baia de apă clocotindă. După răcire, extractul se trece printr-un filtru de hârtie (extractul A).
- 2 g de produs vegetal mărunțit se introduce într-un balon de 100 ml, se adaugă 1 ml soluție de amoniac de 10 %, 20 ml de cloroform și se lasă o oră, amestecând periodic. Extractul cloroformic se filtrează prin vată în pâlnia de separare cu capacitatea de 100 ml și alcaloizii se extrag cu 15 ml HCl 1 % (extractul B).
- peste produsul vegetal mărunțit (2 g) se toarnă soluție de acid acetic de 5 % în proporție de 1:10, se agită pe vibrator 40 min, apoi se trece prin filtrul de hârtie (extractul C).

Reacții calitative (reacții comune și de precipitare). Extractul A sau B se toarnă în eprubete, câte 1 ml în fiecare, și se adaugă atent, cu picătura, reactivele corespunză-

toare. În prezența alcaloizilor se formează precipitat. Intensitatea precipitatului este raportată la conținutul alcaloizilor și la sensibilitatea alcaloidului față de reactiv.

1. *Reactivul Mayer.* Cu majoritatea alcaloizilor în mediu slab acid și neutru acest reactiv formează un precipitat alb sau gălbui. Sensibilitatea alcaloizilor față de acest reactiv este diferită: stricnina și brucina se sedimentează în diluția 1:150000, morfina – 1:25000, iar cafeina, colchicina nu reacționează cu acest reactiv.
2. *Reactivul Wagner și Bouchardat.* Cu majoritatea alcaloizilor, în soluțiile slab acide, aceste reactive formează precipitat brun.
3. *Reactivul Dragendorff.* Mulți alcaloizi în soluții acide formează precipitat de culoare roșie-portocalie sau roșie-cărămizie.
4. *Reactivul Marme.* Cu alcaloizii acest reactiv formează precipitat alb sau galben, adeseori solubil în excesul de reactiv. Sensibilitatea unor alcaloizi față de acest reactiv este joasă: atropina, colchicina, veratrina și alți alcaloizi se sedimentează din soluții relativ concentrate, iar cafeina cu acest reactiv nu formează precipitat.
5. *Soluție de tanin.* În soluțiile acide alcaloizii formează cu taninul un precipitat amorf albui sau gălbui.
6. *Soluția acidului siliciowolframic.* Majoritatea alcaloizilor sunt foarte sensibili față de acest reactiv și în soluții acide slabe formează precipitat albui.
7. *Soluția acidului fosfomolibdenic.* Unul dintre cele mai sensibile reactive, cu alcaloizii formează precipitat gălbui, ce își schimbă culoarea, peste un timp, în albastru sau verde, în urma reducerii acidului molibdenic.
8. *Soluția acidului fosfowolframic.* Acidul fosfowolframic cu mulți alcaloizi formează precipitat albui.
9. *Soluția acidului picric.* Acidul picric formează cu o serie de alcaloizi precipitat (picrat) de culoare galbenă. Unii alcaloizi nu reacționează cu acidul picric (cafeina, morfina, aconitina, teobromina), alții se sedimentează numai din soluțiile concentrate (atropina).
10. *Soluția acidului picrolonic.* Cu mulți alcaloizi acidul picrolonic formează precipitat galben (picrolonat).

Pe lângă reacțiile generale, comune întregii clase de alcaloizi, se cunosc și numeroase reacții specifice (ex. reacția *Dan Rădulescu* pentru identificarea morfinei).

Reacția Vitali este caracteristică esterilor acidului tropic (atropină, hiosciamină, scopolamină).

Principiul metodei constă în nitrarea alcaloizilor la nivelul nucleului benzenic și la gruparea OH, sub acțiunea acidului azotic fumans; în prezența apei din mediu se obține acidul nitroatropic, iar în final, în mediu alcalin (KOH) se formează un azaoxonol colorat în violet, care poate exista în mai multe forme mezomere. Durata colorației este favorizată de prezența acetonei.

Identificarea totalului lipidic și totalului alcaloidic din *Secale cornutum*

În principiu, pulberea de *Secale cornutum* se degresează cu eter de petrol, alcaloizii se extrag cu eter amoniacal și se identifică prin reacția *Van Urk*: colorație albastră-violacee cu p-dimetilaminobenzaldehidă în mediu de acid sulfuric sau cu reactiv *Dragendorff*.

Tehnica de lucru: 0,50 g pulbere de produs vegetal se agită, într-o eprubetă, cu 3 ml eter de petrol timp de 5 minute. Soluția eterică se decantează; pulberea se păstrează pentru prelucrarea ulterioară.

Identificarea totalului lipidic: 5 µl din soluția eterică se depun într-un punct, pe o mică hârtie cromatografică. Hârtia se usucă, se scufundă în soluție de sudan III într-o sticlă de ceas acoperită și se lasă 15 minute. Apoi se spală abundent în apă curentă. În jurul punctului de aplicație se observă o pată de culoare roz.

Identificarea totalului alcaloidic: 0,5 g pulbere degresată de *Secale cornutum* se aduc într-o eprubetă și se tratează cu 4 ml eter etilic și 3 picături de soluție amoniac 10 %, se acoperă eprubeta și se agită periodic, timp de cel puțin 1 oră.

25 µl soluție eterică amoniacală se depun într-un punct, pe o mică hârtie cromatografică, în 5 reprize a câte 5 µl, uscând hârtia între 2 aplicări. Hârtia cromatografică se introduce în reactivul *Dragendorff.* Alcaloizii lisergici dau o pată de culoare roșie, puțin intensă.

Identificarea alcaloizilor din *Papaveris*

Prepararea soluției de analizat: 1 g pulbere de *Papaveris fructus* (sau 0,5 g pulbere de opiu) se extrage pe baia de apă la 60 °C, timp de 30 minute, cu 10 ml de acid clorhidric 1 %, agitând intermitent. Se filtrează. După răcire soluția apoasă acidă se extrage de 2 ori cu câte 3-4 ml eter. Soluția eterică servește la identificarea acidului meconic. Soluția apoasă acidă epuizată cu eter se alcalinizează cu hidroxid de amoniu 10 % și se extrage mai întâi cu alcool amilic (solvent selectiv pentru morfină) (soluția A), cu benzen (extrage codeina, tebaina, narcotina, narceina) (soluția B), apoi cu cloroform (extrage papaverina) (soluția C).

Identificarea morfinei: reziduul rezultat din concentrarea a 1-2 ml soluția A la adăugarea a 2-3 picături reactiv *Marquis* se colorează în roșu purpuriu care în timp devine violet intens, apoi albastru.

Dacă reziduul este tratat cu 2-3 picături reactiv *Frohde* se obține o colorație violetă care trece succesiv în albastru, verde, galben și în final în roz, ca urmare a reducerii progresive a acidului molibdenic.

Identificarea celorlalți alcaloizi: tebaina, narcotina – 2 ml soluție B se concentrează la reziduu; prin adăugare de 2-3 picături reactiv *Frohde* (molibdat de potasiu) se formează o colorație verde (codeina lipsește).

În aceleași condiții, cu reactivul *Marquis,* se obține o colorație roșie-violetă.

Identificarea papaverinei: reziduul rezultat din concentrarea soluției C, prin tratare cu 2-3 picături reactiv *Marquis* se colorează mai întâi în verde-albăstrui, apoi în violet, verde și galben-brun.

Identificarea acidului meconic: soluția eterică se agită cu 1 ml clorură ferică (III) 1 %. După separare stratul apos se colorează în roșu (meconat feric).

Tehnica de lucru: 0,5 g opiu se tratează cu 5 ml apă, 15 minute, la rece. Se filtrează, se adaugă 1-2 picături soluție de $FeCl_3$ 1 %.

Reacția Rădulescu pentru identificarea morfinei

Gruparea fenolică din structura morfinei (în C_3) exercită o influență activatoare asupra unuia dintre hidrogenii poziției vecine (C_2), ceea ce face posibilă substituirea cu agenți electrofili, respectiv cu gruparea –N=O. Ca urmare, în mediul de acid clorhidric morfina reacționează cu nitritul de sodiu și formează 2-nitrozomorfina, colorată în galben, care la alcalinizare trece în roșu și se regenerează la o nouă acidulare.

Tehnica de lucru: 0,01 g pulbere de opiu sau 1g pulbere de *Papaveris fructus* se extrag cu 5 ml HCl 0,1 N şi se filtrează. În cazul pulberii de *Papaveris fructus*, filtrarea se face direct într-un cilindru gradat de 10 ml. Volumul soluţiei filtrate se aduce la 5 ml adăugând treptat, peste reziduul din filtru, câte 1 ml de HCl 0,1 N.

Peste filtrat se adaugă 2 ml soluţie azotit de sodiu 1 % şi se lasă în repaus 15 minute. Apare o coloraţie galbenă, care la alcalinizare cu 3 ml amoniac 10 % virează în roşu portocaliu.

Reacţii de identificare a alcaloizilor purinici

Alcaloizii purinici se pot identifica prin reacţii de precipitare (cu iod-iodurat sau acid tanic) şi reacţii de oxidare la acid purpuric (reacţia murexidului).

Reacţia cu iod-iodurat: 0,05-0,10 g produs vegetal pulverizat se extrag la fierbere cu 2-3 ml HCl 10 %. Se filtrează, se adaugă 2-3 ml soluţie iod-iodurat. Se obţine un precipitat cafeniu.

Reacţia cu acid tanic: 0,05-1 g produs vegetal pulverizat se extrag la fierbere cu 2-3 ml HCl 10 %. Filtratul se tratează cu 0,5 ml soluţie acid tanic de 0,1 %. Apare un precipitat care se redizolvă în exces de reactiv.

Reacţia murexidului: 1 g produs vegetal pulverizat se agită cu 15 ml cloroform şi 4 picături amoniac 10 %, timp de 10 minute. Soluţia cloroformică se filtrează şi se evaporă la sec. Reziduul se tratează cu 10 picături apă oxigenată şi 10 picături HCl concentrat şi se evaporă la sec; reziduul galben-roşcat, expus la vapori de amoniac, se colorează în roşu violet.

Observaţii. Alcaloizii purinici se oxidează în prezenţa clorului pus în libertate în reacţia dintre acidul clorhidric şi apa oxigenată. Se formează derivaţi metilaţi de aloxan şi uranil, iar prin condensare rezultă un compus metilat al oxibarbituril-uranilului, care prin eliminarea apei trece într-un derivat metilat al acidului purpuric (roşu). La adăugare de amoniac se formează săruri de amoniu ale derivaţilor metilaţi ai murexidului (violet).

Cromatografie pe hârtie

Pregătirea extractului din produsul vegetal. 1 g de produs vegetal mărunţit se pun într-un balon de 100 ml, se toarnă 25 ml de HCl 1 % şi se lasă pe o oră, agitând periodic, sau se încălzeşte produsul vegetal 5 minute la baia de apă clocotindă. După răcire, extractul se filtrează prin vată în pâlnia de separare cu capacitatea de 100 ml. La filtrat se adaugă soluţie concentrată de amoniac până la reacţia bazică după fenoftaleină şi alcaloizii se extrag cu 5 ml de cloroform (extractul B).

Cromatografie pe hârtie (părţi aeriene şi seminţe de linte-lanceolată).

Pe fâşia de hârtie cromatografică (lungimea 30 cm, lăţimea cu 12 cm), pe linia de start, la distanţa de 2-3 cm de la marginea de jos, cu un capilar sau cu pipetă se aplică 0,1 ml de extract B din părţi aeriene şi seminţe de linte-lanceolată, iar în calitate de martor soluţiile: citizină, metilcitizină şi pahicarpină. Distanţa de la marginea laterală a fâşiei de hârtie cromatografică şi între pete trebuie să fie 2 cm. Fâşia de hârtie cromatografică cu soluţiile aplicate pe ea (după uscare) se instalează în camera cromatografică în care, cu o zi înainte, a fost turnat sistemul: n-butanol - acid acetic - apă (5:1:4). Marginea de jos a cromatogramei se introduce în lichid aproximativ la 3-5 mm (expoziţia 14-15 ore). După uscare, cromatograma se tratează (din pulverizator) cu reactivul *Dragendorff*. Pe fundal galben, alcaloizii apar sub formă de spoturi de culoare portocalie sau roşie-portocalie.

Cromatografie în strat subțire de sorbant (părți aeriene și semințe de linte-lanceolată). Pe o placă de sticlă de 12 × 9 cm cu stratul fixat de silicagel pe linia de start, situat la 1,5 cm de la marginea de jos, se aplică cu un capilar sau cu o pipetă specială 0,1 ml de extract B din părți aeriene și semințe de linte-lanceolată și soluțiile „martor": citizină, metilcitizină, pahicarpină. Distanța de la marginea laterală și între pete trebuie să fie de 1,5 cm. Diametrul petelor – nu mai mare de 5 mm. După uscare placa se instalează în camera de cromatografiere, în care, în prealabil, se toarnă sistemul: cloroform-acetonă-dietilamină (5:4:1). Expoziția 30-40 min. După uscare minuțioasă, cromatograma se tratează cu reactivul *Dragendorff*. Pe fundal galben apar spoturi portocalii (alcaloizii).

Cromatografie în straturi subțiri de sorbant (frunze de mătrăgună, semințe de ciumăfaie). Pe o placă de sticlă de 12 × 9 cm cu strat fixat de silicagel, pe linia de start, la distanța de 1,5 cm de la marginea de jos, se aplică 0,1 ml extract B din frunzele de mătrăgună, semințe de ciumăfaie, iar în calitate de martor soluțiile de: hiosciamină (atropină), scopolamină. Distanța de la marginea laterală și între pete trebuie să fie de 1,5 cm, diametrul petelor nu mai mare de 5 mm. După uscare placa se instalează în camera cromatografică în care, în prealabil, a fost turnat sistemul I: cloroform-acetonă-dietilamină (5:4:1), sau sistemul II: acetonă-soluție de amoniac (95:5). Grosimea stratului de lichid – 5 mm. Expoziția 30-40 minute. După uscare, cromatograma se tratează cu reactivul *Dragendorff* (pete portocalii).

Identificarea alcaloizioor tropanici prin CSS

Soluția de analizat: 0,4-2 g pulbere de produs vegetal se agită timp de câteva minute cu 15 ml acid sulfuric 0,1 N, apoi se filtrează. Reziduul vegetal se spală cu acid sulfuric 0,1 N până la un volum de filtrat de 20 ml și se adaugă 1 ml amoniac concentrat. Amestecul se agită de 2 ori cu 10 ml eter etilic. Faza eterică se separă și se filtrează peste sulfat anhidru, se evaporă la sec și reziduul se dizolvă în 0,5 ml de metanol.

Soluții etalon: atropină, scopolamină (0,01 g în 20 ml metanol).

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: toluen:acetat de etil:dietilamină (7:2:1).

Revelare: pulverizare cu reactiv *Dragendorff* (I) și soluție de nitrit de sodiu 1% (II).

Rezultate: examinarea și delimitarea spoturilor se face la lumina zilei (Rf atropină = 0,2; Rf scopolamină = 0,4).

Identificarea alcaloizilor din *Secale cornutum* prin CSS

Soluția de analizat: 1 g pulbere de *Secale cornutum* degresată se tratează cu 1 ml amoniac 10 % și se extrage 10 minute cu 5 ml metanol, la reflux. Filtratul se concentrează pe baia de apă.

Soluții etalon: soluții metanolice 0,1 % de ergometrină, ergotamină, ergocristină.

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: toluen:cloroform:etanol (28,5:57:14,5).

Revelare:

- UV (254 nm).
- pulverizare cu reactiv *Van Urk*.

Rezultate: ergometrină (Rf = 0,05), ergotamină (Rf = 0,25), ergocristină (Rf = 0,45) – spoturi de culoare albastră.

Identificarea cromatografică a alcaloizilor din opiu prin CSS

Soluția de analizat: 0,05 g pulbere de opiu se umectează cu 1 ml amoniac 10 % și se extrag 10 minute la reflux cu 5 ml metanol. Filtratul se concentrează până la 1 ml.

Soluții etalon: papaverină și codeină, soluții 1% în amestec cloroform-metanol (8:2).

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: toluen:acetat de etildietilamină (7:2:1).

Revelare:

- în lumină UV (254nm).
- pulverizare cu reactiv *Dragendorff*.

Rezultate: după pulverizare se obțin spoturi portocalii: codeina (R_f = 0,20), papaverina (R_f = 0,65).

Identificarea cromatografică a alcaloizilor din *Chelidonii herba prin CSS*

Soluția de analizat: 1 g pulbere se amestecă cu 1 ml NH_4OH 10 % și se extrage 10 minute la reflux, cu 5ml metanol. Filtratul se concentrează până la 1 ml.

Soluția etalon: berberină 1 % în metanol.

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: 1-propanol:apă:acid formic (90:9:1).

Revelare:

- în lumină UV (254nm).
- pulverizare cu reactiv *Dragendorff*.

Rezultate: berberină – fluorescență galbenă în UV; după pulverizare – spot de culoare roșie-brună (Rf = 0,20), coptizina – spot de culoare galbenă (Rf = 0,15), chelidonina – spot de culoare galbenă-verzuie (Rf = 0,80), sanguinarina – spot de culoare galbenă (Rf = 0,30-0,40).

Identificarea citizinei și sparteinei din produse vegetale prin CSS

Soluția de analizat: 1 g pulbere produs vegetal se tratează cu 1 ml de amoniac 10 % și se extrage 10 minute cu 5 ml metanol, la reflux. Filtratul se concentrează.

Soluții etalon: citizină, sparteină 1% în metanol.

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: cloroform:metanol:acid acetic glacial (47,5:47,5:5).

Revelare:

- în UV (365 nm).
- pulverizare cu reactiv *Dragendorff-Munier*.

Rezultate: după pulverizare se obțin spoturi de culoare brună: citizină (R_f = 0,20), sparteină (Rf = 0,25).

Identificarea pilocarpinei din *Jaborandi foliam prin CSS*

Soluția de analizat: 1 g pulbere de *Jaborandi foliu* se tratează cu 1 ml de amoniac 10 % și 5 ml metanol; amestecul se menține 5 minute la 60 °C pe baia de apă, la reflux. Filtratul se concentrează.

Soluția etalon: pilocarpina 1 % în metanol.

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: toluen:acetat de etildietilamină (7:2:1).

Revelare: reactiv *Dragendorff*.

Rezultate: invizibil, pilocarpina (Rf = 0,10) se evidențiază sub forma unui spot de culoare portocalie-brună.

Identificarea alcaloizilor cu nucleu purinic din produse vegetale prin CSS

Soluția de analizat: 1 g pulbere de produs vegetal se tratează cu 10 ml de metanol, pe baia de apă, 10 minute, la reflux. Filtratul se concentrează.

Soluția etalon: 5 mg cafeină, 3 mg teobromină și 7 mg teofilină se dizolvă în câte 10 ml amestec cloroform:metanol (6:4).

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: acetat de etil:metanol:apă (100:13,5:10).

Revelare: reactiv clorură ferică – iod.

Rezultate: se obțin spoturi de culoare brună-cafeină (Rf= 0,45); teobromină (R_f = 0,40); teofilină (R_f= 0,60).

Identificarea aconitinei din *Aconiti tuber* prin CSS

Soluția de analizat: 1 g pulbere de *Aconiti tuber* se tratează cu 1 ml de amoniac 10% și 5 ml metanol; amestecul se menține 5 minute la 60 °C pe baia de apă, la reflux. Filtratul se concentrează.

Soluția etalon: aconitină 1 % în metanol.

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: toluen-acetat de etildietilamină (7:2:1).

Revelare: reactiv *Dragendorff*.

Rezultate: invizibil, aconitina (Rf = 0,60) se evidențiază sub forma unui spot de culoare brună.

Identificarea colchicinei din *Colchici semina* prin CSS

Soluția de analizat: 3 g pulbere de *Colchici semina* se extrag 10 minute cu 10 ml metanol, la reflux. Filtratul se concentrează.

Soluții etalon: colchicină 1 % în metanol.

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: acetat de etil:metanol:apă (100:13,5:10).

Revelare:

- examinare în UV (365 nm).
- pulverizare cu reactiv *Dragendorff* și $NaNO_2$ 1 %.

Rezultate:

- în lumină UV, colchicina (Rf = 0,25) prezintă fluorescentă galbenă.
- după pulverizare, colchicina (Rf = 0,25) prezintă colorație brună.

Analiza spectrală

În scopul identificării alcaloizilor, în afară de reacțiile calitative și analiza cromatografică, se determină temperatura de topire, rotația specifică, formula brută, masa moleculară, se obțin o serie de derivați, se determină constantele lor. În afară de aceasta, pentru identificarea alcaloizilor se folosește pe larg spectrul UV, IR, RMP. În așa cazuri nu e obligatoriu de a înregistra concomitent spectrele substanței analizate și ale modelului cunoscut, ultimul poate fi găsit în literatura de specialitate. Spectrele UV, IR, RMP se folosesc la determinarea structurii alcaloizilor, deoarece interpretarea spectrelor permite stabilirea prezenței sau lipsei legăturilor duble conjugate și a diverselor grupe funcționale (carbonilă, N-metilă, hidroxilă etc.). Astfel, în spectrul infraroșu al atropinei liniile de absorbție la 1740 cm^{-1} arată prezența carbonilului legăturii esterice; 2940 cm^{-1} a hidroxilului alcoolic. În spectrul ultraviolet al atropinei $\lambda_{max.}$=252, 258, 262 nm, e caracteristic legăturilor duble conjugate din ciclul aromatic.

Liniile de absorbție la 3220-3480 cm^{-1} în spectrul infraroșu al morfinei sunt tipice hidroxililor fenolici și alcoolici. În spectrul ultraviolet al morfinei, A=284 nm indică prezența ciclului aromatic.

Determinarea cantitativă

Metoda determinării cantitative a alcaloizilor în: *Belladonnae folia, B. herba, B. radices, Hyoscyami folia, Stramonii folia.* În aceste produse vegetale predomină hiosciamina, care sub acțiunea bazelor alcaline trece în atropină optic inactivi. Într-o cantitate mai mică se află scopolamina și alți alcaloizi, asemănători după structură. Prin această metodă se determină totalul de alcaloizi; determinarea se efectuează prin metoda titrimetrică (titrarea indirectă):

10 g de produs vegetal mărunțit se trec prin sita cu orificiile de 1 mm, se pun într-un balon de 250 ml, se adaugă 7 ml de soluție concentrată de amoniac, 150 ml de eter etilic (în laborator pentru securitate, eterul etilic se înlocuiește cu cloroform), timp de 1 oră amestecul se agită des și energic; extractul eteric se filtrează repede prin vată într-un balon de 200 ml, acoperind pâlnia cu sticlă de ceas. La filtrat se adaugă 5 ml de apă, se agită energic și se lasă până la limpezirea stratului de eter, apoi se măsoară cu cilindrul gradat 90 ml de extract etilic și se toarnă în pâlnia de separare cu capacitatea de 200 ml. Cilindrul se spală de 2 ori cu porțiuni a câte 10 ml de eter etilic, care se unesc cu cele 90 ml de eter etilic. Din extractul eteric alcaloizii se extrag consecutiv cu 20, 15, 10 ml de HCl 1 % până la extragerea lor deplină (reacția cu reactivul Mayer sau cu soluția de acid siliciowolframic), de fiecare dată trecând-o prin filtrul umezit cu apă (diametrul 5 cm) în a doua pâlnie de separare de aceeași capacitate. Filtrul se spală de două ori cu câte 5 ml de soluție de 1 % de acid clorhidric, adăugând acest lichid la extractul acid.

Extractul acid se alcalinizează cu soluție de 10 % de amoniac până la reacția bazică după fenolftaleină și alcaloizii se extrag consecutiv cu 20, 15, 10 ml de cloroform, agitând câte 3 minute. Fiecare porțiune de extract cloroformic se trece prin filtru de hârtie, pe care, în prealabil, se pun 4-5 g de suflat de sodiu anhidru proaspăt călit, stropit cu cloroform. Filtrarea se efectuează în balonul pentru distilare de 100 ml. Filtrul se clătește de două ori cu câte 5 ml de cloroform. Cloroformul se înlătură pe baia de apă până la 1-2 ml, restul de cloroform din balon se înlătură prin insuflare cu aer până la dispariția mirosului de solvent. Reziduul uscat se dizolvă în 15 ml de HCl 0,02 N și se titrează cu NaOH 0,02 N până la apariția culorii galbene (indicator roșu de metil).

1 ml HCl 0,02 N corespunde la 0,005780 g de alcaloizi (recalculat în hiosciamină). Cantitatea procentuală, în raport la produsul vegetal absolut uscat x, se calculează după formula:

$$x = \frac{(15-V)0{,}005780 \times 100 \times 100}{m(100-w)},$$

în care: V – volumul de NaOH de 0,02 N cheltuit la titrare, ml; m – masa produsului vegetal ce corespunde volumului extractului eteric, g; w – pierderea din masă la uscare, %.

Metoda determinării cantitative a alcaloizilor în *Thermopsidis herba,* care conțin alcaloizi derivați ai chinolizidinei (termopsina (anagirina), homotermopsina, pahicarpina, metilcitizina). După această metodă se determină suma alcaloizilor prin metoda titrimetrică (titrare directă):

10 g (probă exactă) de produs vegetal din părţi aeriene de linte-lanceolată, mărunţite şi cernute prin sita cu orificiile de 1 mm, se pun într-un balon de 400-500 ml, se adaugă 200 ml cloroform, se alcalinizează cu soluţie de amoniac 10 % până la reacţia alcalină, după fenolftaleină, se agită la aparatul de vibraţie timp de 1,5 ore. Extractul cloroformic se strecoară prin vată într-un cilindru gradat. Volumul exact al extractului cloroformic, ce corespunde unei anumite mase de produs vegetal, se trece într-un balon, iar cloroformul se înlătură prin evaporare până la volumul de 5 ml. Restul se toarnă într-o pâlnie pentru separare de 100 ml, balonul se clăteşte de 2 ori cu câte 5 ml de cloroform ce se adaugă soluţiei cloroformice. Soluţia cloroformică se agită cu HCl 1N % câte 10 ml, apoi câte 5 ml până la extracţia deplină a alcaloizilor (reacţia cu reactivul *Mayer* sau cu soluţia acidului siliciowolframic). Extractele acide unite se alcalinizează cu NaOH 10 % în prezenţa fenolftaleinei şi de trei ori se efectuează extracţia cu cloroform a câte 15, 10 şi 5 ml respectiv. Extractele cloroformice se trec printr-un filtru, pe care se plasează 2 g Na_2SO_4 anhidru. Filtru cu Na_2SO_4 de trei ori se clăteşte cu câte 10 ml de cloroform ce se adaugă apoi la filtrat. Cloroformul se înlătură prin evaporare la baia de apă până la 2-3 ml; iar restul prin insuflare cu aer. Reziduul din balon se dizolvă în 5 ml de alcool etilic şi se adaugă 15 ml de apă, 2 picături de soluţie de roşu de metil şi o picătură de albastru de metilen şi se titrează cu HCl 0,1 N până la apariţia culorii albastre-violete. 1 ml HCl 0,1 N îi corespund 0,0244 g alcaloizi din linte-lanceolată:

$$x = \frac{0{,}044V \times 100 \times 100 \times 200}{V_1 m \times (100 - w)},$$

în care: *V* – volumul de HCl 0,1 N cheltuit la titrare, ml; *m* – masa produsului vegetal, g; *w* – pierderea din masa produsului vegetal la uscare, %; V_1 – volumul extractului cloroformic, luat pentru determinare, ml.

Metoda determinării cantitative a berberinei în *Berberidis radices*. Rădăcinile de dracila conţin alcaloizi derivaţi ai izochinolinei: berberina, berberubina, iatroricina, palmatina etc. Berberina poate fi atât sub formă de compus de amoniu cuaternar (I), cât şi de aldehidă (II) şi carbinolă (III). Determinarea cantitativă a berberinei în rădăcinile de dracilă prin metoda spectrofotometrică se bazează pe extracţia selectivă a berberinei sub formă carbinolă şi separarea de alcaloizii de natură fenolică la etapa de extragere.

În spectrul ultraviolet al bisulfatului de berberină în H_2SO_4 2 % se află o serie de linii intensive de absorbţie. La determinarea cantitativă după această metodă serveşte linia de absorbţie cu cea mai mare lungime de undă (420 nm).

Pentru a determina cantitatea de berberină de la proba medie a produsului vegetal întreg se i-a nu mai puţin de 1 kg, care se mărunţeşte până la părticele ce trec prin sita cu diametru de 7 mm, apoi se aleg nu mai puţin de 250 g de produs vegetal ce se mărunţeşte până la părticele ce trec prin sita cu diametrul găurilor de 3 mm. Din acest produs se aleg 23 g şi se marunţesc până la părticele ce trec prin sita cu diametru de 1 mm.

0,5 g produs vegetal (eroare admisă – 0,0001 g) se pun într-un balon conic cu fundul plat de 100 ml, cu dop rodat, se adaugă 0,5 ml NaOH 25 %, se amestecă bine cu o baghetă de sticlă până se obţine o masă umedă omogenă, se închide cu dopul şi se lasă la temperatura camerei timp de 2 ore. Apoi în balon se adaugă 50 ml de eter etilic, se astupă cu dop, se cântăreşte (eroare admisă – 0,01 g). Conţinutul balonului se agită atent,

efectuând mişcări circulare timp de 10 minute. Se cântăreşte din nou şi pierderea din masă se compensează cu eter etilic. Conţinutul balonului iar se agită şi se lasă să se sedimenteze. Se i-au atent cu pipeta 15 ml de extract eteric, se trec în pâlnia pentru separare de 100 ml şi se efectuează extragerea alcaloizilor cu H_2SO_4 2 % cu porţiuni de 20, 10 şi 10 ml (până la reacţia negativă cu acidul siliciowolframic). Extractele acide se pun într-un balon cotat de 50 ml şi se adaugă H_2SO_4 2 % până la cotă. După amestecare, soluţia se spectrofotometrează la lungimea de undă de 420 nm în cuva cu grosimea stratului de 1 cm.

Cantitatea procentuală a bisulfatului de berberină x, în raport cu produsul vegetal absolut uscat, se determină după formula:

$$x = \frac{50 \times 50 \times 100D}{15 \times 128m(100 - w)},$$

în care: *50* – volumul extractului eteric, ml; *50* – volumul extractului acid, ml; *15* – volumul extractului eteric luat pentru determinare, ml; *128* – indicele specific de absorbţie $E^{1\%}/_{1\,cm}$ al bisulfatului de berberină, la lungimea de undă 420 nm; *D* – densitatea optică a extractului acid; m – masa produsului vegetal, g; *w* – pierderea din masa produsului vegetal la uscare, %.

Izolarea berberinei din *Berberidis cortex*

Tehnica de lucru: 30 g produs vegetal pulverizat se refluxează cu etanol, se filtrează; soluţia etanolică se evaporă la sec, la rotavapor. Reziduul se dizolvă în cantităţi mici de eter, până la epuizare; se filtrează şi se concentrează. Reziduul se reia repetat cu cantităţi mici de apă, la cald, până la decolorare. Soluţiile apoase se filtrează. Filtratul se acidulează cu acid clorhidric concentrat (pH =1-2) şi se lasă în repaus la 5-10 °C. În timp se depun cristale aciculare galbene de clorhidrat de berberină care se separă prin filtrare şi se purifică prin recristalizare din etanol.

Determinarea cantitativă a alcaloizilor protoberberinici din *Berberidis cortex*

Tehnica de lucru: 1,000 g de pulbere de produs vegetal se extrage de 2 ori cu câte 25 ml metanol, timp de 15 minute pe baia de apă în fierbere, la reflux. Soluţiile se filtrează într-un balon cotat de 50 ml şi se aduc până la cotă cu alcool metilic. 0,5 ml din această soluţie se introduc într-un balon cotat de 25 ml, apoi se aduce până la cotă cu metanol. După omogenizare se determină absorbanta, la 350 nm, faţă de metanolul absolut.

Conţinutul de alcaloizi (x) protoberberinici, exprimaţi în berberină, se determină după formula:

$$x\ \% = Ap / A^{1\%}_{1cm} \times 2500/a,$$

în care: *Ap* – absorbanta probei la 350 nm, $A^{1\%}_{1cm}$ – absorbanta specifică a berberinei la 350 nm (=580), *a* – cantitatea de produs vegetal luat în lucru (g).

Determinarea cantitativă a berberinei prin metoda sprectrofotometrică cu utilizarea cromatogramei în strat subţire. Metoda se bazează pe separarea alcaloizilor în strat subţire de sorbant şi determinarea berberinei prin metoda spectrofotometrică. Masa exactă (0,5-1 g) de rădăcini de dracilă mărunţite, trecute prin sita cu diametrul de 1 mm, se trec într-un balon cotat de 50 ml, se adaugă 10 ml alcool etilic 95 % şi se încălzeşte cu refrigerent ascendent la baia de apă, menţinând fierberea înceată a alcoolului etilic timp de 30 minute. După răcirea până la temperatura camerei se iau cu pipeta 0,2 ml de extract (lichidul deasupra sedimentului) şi se aplică pe linia de start a plăcii cromatografice de silicagel, în formă de fâşie cu lungimea de 5-7 cm, la

distanța de 1,5 cm de la marginea de jos a plăcii. Pentru determinarea zonei berberinei, în partea dreaptă a plăcii, pe linia de start a plăcii, se aplică soluția de bisulfat de berberină (3-5 capilare), diametrul petei 0,5-0,7 mm. După uscare placa se instalează în camera de cromatografiere. Pentru developare se utilizează doar o singură dată sistemul: soluție concentrată de amoniac-alcool etilic-cloroform (1:3:3). Grosimea stratului de solvenți în camera de cromatografiere e de 5 mm, durata de expunere la temperatura camerei 30-40 minute.

Cromatograma, după uscare, se examinează la lumina ultravioletă, se marchează zona ce corespunde berberinei și această porțiune de sorbant se trece cu bisturiul de pe placă într-un balon de 25 ml. Berberina se eluează de 4 ori cu H_2SO_4 0,1 N la încălzire timp de 1 min, la baia de apă. Acidul se măsoară cu ajutorul biuretei: prima dată 4 ml, apoi de 3 ori câte 2 ml. Sfârșitul eluării se determină după dispariția fluorescenței silicagelului la lumina ultravioletă. Eluatul de fiecare dată se trece prin decantare în alt balon de 25 ml. Pentru a înlătura rămășițele de silicagel, eluatul se supune centrifugării timp de 5 minute (1000 rotații/minut). Densitatea optică a eluatului se măsoară la spectrofotometru, față de control la lungimea de undă de 345 nm în cuva cu grosimea stratului de 1 cm. Drept control va servi eluatul silicagelului curat de pe aceeași placă, scos de pe suprafața egală cu cea a spotului de berberină.

Cantitatea procentuală a berberinei în probă (x) se află pentru produsul vegetal absolut uscat în raport cu bisulfatul de berberină, după formula:

$$x = \frac{V \times V_2 \times 100 \times D}{V_1 \times 646 \times m \times (100 - w)},$$

în care: *V* – volumul alcoolului etilic, folosit pentru extragere, ml; V_1 – volumul extractului aplicat pe cromatogramă, ml; V_2 – volumul eluatului de berberină, ml; *D* – densitatea optică a eluatului; *w* – pierderea din masa produsului vegetal la uscare, %; *m* – masa produsului vegetal, g; *E (646)* – indicele specific de absorbție al bisulfatului de berberină.

Determinarea cantitativă a morfinei

Se poate efectua prin metode titrimetrice, colorimetrice, cromatografice.

FRX descrie o metodă titrimetrică, bazată pe separarea selectivă a morfinei de alcaloizii secundari și titrarea morfinei bază cu acid sulfuric, în prezența roșului de metil ca indicator.

Tehnica de lucru: într-un mojar, la 5 g opiu se adaugă 10 ml apă, și se triturează până la obținerea unei paste omogene. Se adaugă 2 g hidroxid de calciu și se triturează continuu timp de 15 minute. Se adaugă 40 ml apă și se lasă în repaus timp de 30 de minute, triturând des; se filtrează printr-un filtru uscat. Într-un flacon cu dop rodat se iau 26 ml filtrat (2,5 g opiu) la care se adaugă 2,5 ml alcool 90° și 12,5 ml eter și se agită, apoi se adaugă 1 g clorură de amoniu și se agită energic și continuu timp de 5 minute, apoi frecvent timp de 30 de minute și se lasă în repaos timp de 12 ore. Se agită energic pentru a aduce în suspensie morfina precipitată și se filtrează sub presiune redusă printr-un creuzet filtrant G4. Flaconul și filtrul se spală cu 3 ml eter și de trei ori cu câte 3 ml apă saturată cu morfină și eter. Flaconul, care mai poate conține cristale de morfină, și creuzetul filtrant se usucă în etuvă, la 105 °C, timp de 30 de minute. După răcire, creuzetul filtrant se fixează la un flacon de filtrare sub presiune redusă. Urmele de morfină din flacon se dizolvă în 40 ml metanol la fierbere, adăugat în porțiuni a câte 10 ml, care se adaugă apoi în creuzetul filtrant pentru dizolvarea morfinei. La soluția filtrată se adaugă 0,2 ml roșu de metil – soluție (I) și se titrează cu acid sulfuric

0,05 mol/l până la colorație portocalie; se diluează cu 120 ml apă proaspăt fiartă și răcită și se continuă titrarea până la colorație roz.

1 ml de acid sulfuric 0,05 mol/l corespunde la 0,02853 g $C_{17}H_{19}NO_3$.

La cantitatea de morfină din masa probei luate în lucru se adaugă 0,026 g (corecția pentru morfina rămasă dizolvată în filtrat). Rezultatul se raportează la 100 g opiu.

Determinarea cantitativă a cafeinei din produse vegetale

Determinarea cantitativă gravimetrică se bazează pe solubilitatea cafeinei în cloroform, teofilina și teobromina fiind insolubile în acest solvent.

Tehnica de lucru: 2,000 g produs vegetal pulverizat se fierb ușor 5 minute, cu 10 ml apă. Se adaugă 5 ml soluție amoniac 10 %, se răcește și se adaugă 54 ml cloroform. Se agită puternic până se formează o emulsie. Se lasă în repaus pentru separarea fazelor, se adaugă câteva grame sulfat de sodiu anhidru și se agită puternic. Soluția filtrată, de culoare verzuie sau brună, se tratează cu 0,5-0,6 g cărbune, adăugat în porțiuni mici; se lasă în repaus 30 de minute și se filtrează. Într-o fiolă de cântărire tarată se cântăresc 40 g soluție extractivă cloroformică (= 1 g produs vegetal) și se evaporă pe o baie de apă în fierbere, după care se usucă cu un curent de aer și se menține încă 10 minute în etuvă la 105 °C. Reziduul constă din cafeină pură. După răcire se cântărește, iar rezultatul se exprimă procentual.

Conținutul în cafeina diferă în funcție de produsul vegetal: *Colae semina* – 2,5%, *Coffeae semina* – 0,6-2,5%, *Theae folia* – 2-4% cafeina.

3.11. Produse vegetale cu conținut de floroglucide și lignane

Caractere macro- și microscopice

RHODIOLAE ROSEAE RHIZOMATA – rizomi de rodiolă

Planta producătoare: ***Rhodiola rosea*** L. – rodiolă

Fam. **Crassulaceae**

Caractere macroscopice: rizomi de diferite forme – cilindrică cu numeroase ramificări subțiri; bulbiformă cu suprafață neregulată datorită numeroșilor muguri de regenerare sau urmelor de tulpini moarte. Lungimea 7-12 cm, diametrul 1,5-3,5 cm; ramificațiile rizomilor 1,2-2,5 cm lungime. Suprafața rizomului este acoperită cu periderm neted, lucios, galben-cenușiu. Peridermul este trainic și exfoliază de pe rizom în straturi sau inele, dezgolind un strat de culoare galbenă-aurie. În fractură rizomul este alb, gălbui sau roz.

Gust amărui-astringent, mirosul caracteristic, asemănător cu mirosul de trandafir.

Caractere microscopice: secțiune transversală prin rizom *(fig. 86)*. Rizomul constă din 3-4 straturi paralele de peridermă, printre care se află straturi subțiri de parenchim. Membranele celulelor felodermei îngroșate. Parenchimul poros, din celule rotunjite cu membrane groase și un conținut granulos. Cele mai mari fascicule conducătoare, în partea periferică a rizomului, formează un inel. Fasciculele sunt colaterale, deschise, în secțiune transversală fusiforme, cu liberul spre exterior. Spre centru de la acest inel se întâlnesc fascicule mai mici, formând adesea al doilea inel, incomplet; fasciculele de ordinul doi sunt orientate cu lemnul în exterior; în partea centrală a rizomului fasciculele sunt mici, incomplete (fără liber), orientate în diferite direcții, anastomozează. Liberul este slab dezolvat, în fasciculele mai mari – obliteral, în cele mici adesea lipsește. Vasele lemnului sunt înguste, cu îngroșare inelară.

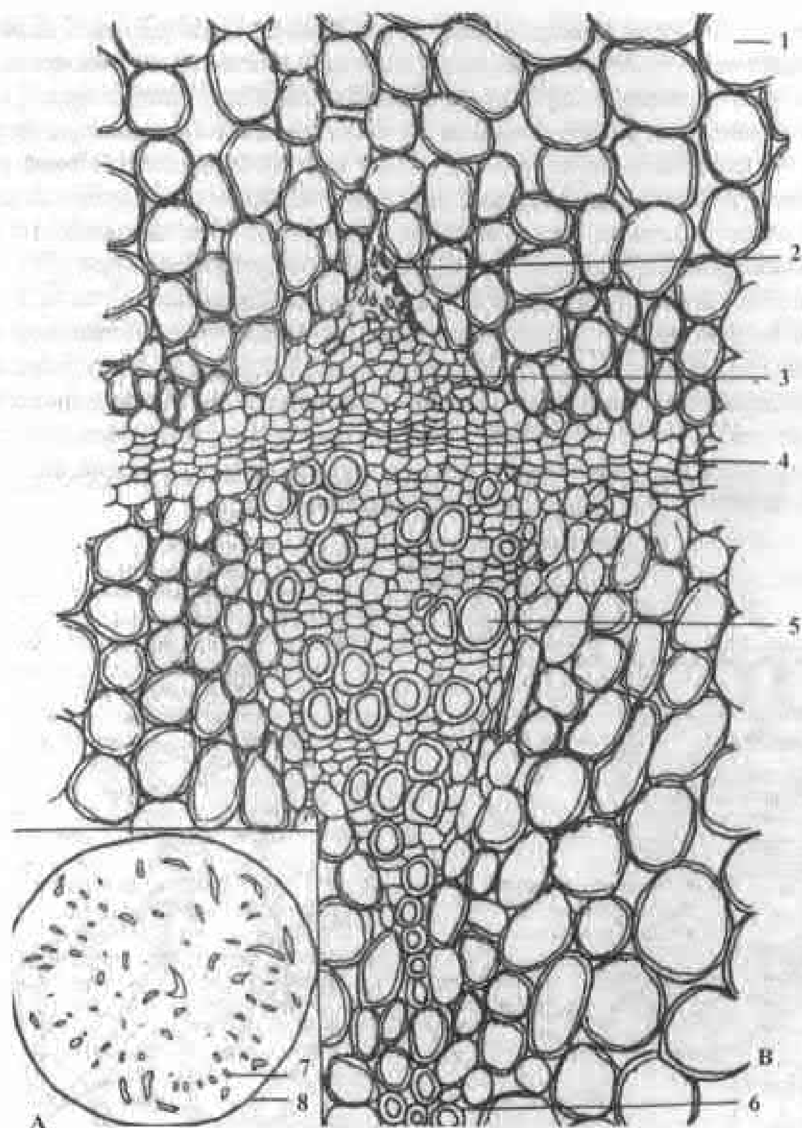


Fig. 86. **Rizom de rodiolă:** *A* – schema secțiunii transversale (la lupă); *B* – fragment de secțiune transversală prin fasciculul conducător (x280). *1* – parenchim; *2* – țesuturi obliterate; *3* – liberul fasciculului conducător; *4* – cambiu; *5* – lemn; *6* – fascicul conducător incomplet (lemn); *7* – fascicule conducătoare; *8* – suber

SCHIZANDRAE CHINENSIS FRUCTUS – fruct de lămâi-chinezesc

Planta producătoare: ***Schizandra chinensis*** (Turcz.) Baill. – lămâi-chinezesc

Fam. **Schizandraceae**

Caractere macroscopice: fructul constituie o bacă cu mezocarpul fin și 1-2 semințe. Forma fructului sferică, diametrul 5-9 cm. În produsul vegetal bacele sunt lipite între ele, zbârcite, deformate, prin fisurile mezocarpului uscat se observă semințele. Culoarea fructului cafenie-roșiatică.

Gustul picant, acru-amărui, mirosul slab, specific.

Semințele sunt riniforme, turtite, netede, în produsul proaspăt lucitoare, după păstrarea îndelungată mate, spermoderma groasă, tare, se desparte ușor de endosperm. Pe partea concavă, de-a curmezișul seminței, se observă o canelură. Partea centrală a seminței este densă, uleioasă, galben-cerată, cu un vârf ascuțit, altul lat, rotunjit. Pe partea convexă a nucleului seminal se observă o fâșie îngustă, întunecată. O bună parte din nucleul seminal îl formează endospermul. Embrionul se află în vârful ascuțit al seminței, putând fi observat bine cu lupa. Lungimea seminței 3-5 mm, diametrul 2-4 mm (4-5 mm). Culoarea galbenă-portocalie sau cafenie-deschisă (după păstrare).

Miros puternic (la mărunțire), specific; gust amar, iute, iritant.

Caractere microscopic: secțiune transversală prin sămânță *(fig. 87)*. Celulele epidermei sunt mari, tetraedrice, cu pereții îngroșați, lignificați, galben-închiși, străbătuți de pori. Sub epidermă se observă 4-6 rânduri de celule puternic lignificate; sub ele sclereide, urmate de celule foarte mari, ce conțin picături uleioase galbene-deschise, și de un țesut fără structură – stratul intern al spermodermei. Endospermul constă din celule poligonale cu conținut de ulei gras și granule de aleuronă.

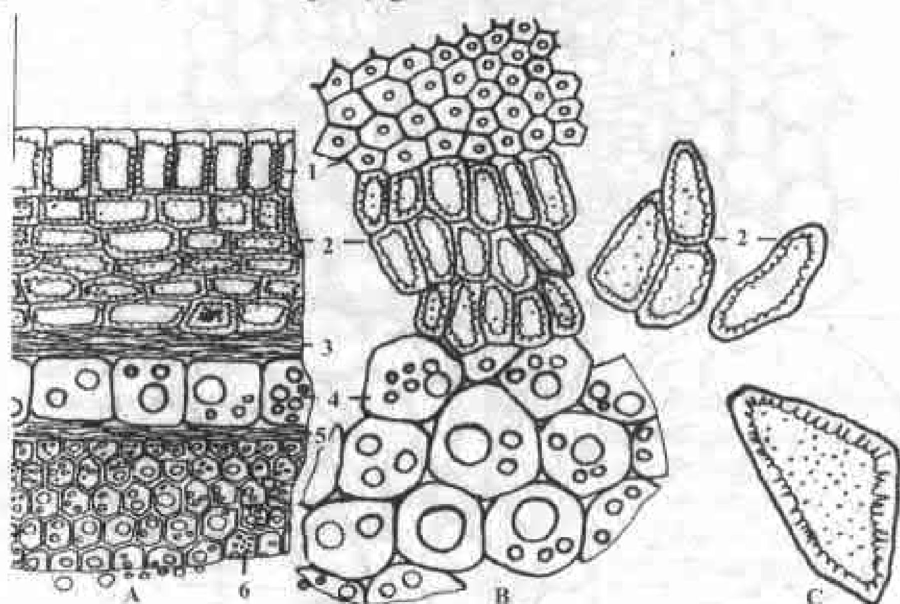


***Fig. 87.* Sămânță de lămâi-chinezesc. Fragment de secțiune transversală prin sămânță (*A*) și elementele tegumentelor seminale după macerare (*B*) (x280);** *1* – epiderma; *2* – țesut mecanic; *3* și *5* – straturi alipite; *4* – celule cu ulei volatil; *6* – endospermul seminței; *C* – celula sclerificată a tegumentului seminal

FILICIS MARLS RHIZOMATA – rizomi de ferigă-comună

Planta producătoare: ***Dryopteris filix-mas*** (L.) Schott. – ferigă-comună

Fam. **Polypodiaceae**

Caractere macroscopice: produsul vegetal constă din rizomi cu bazele îngroșate ale pețiolilor frunzelor ce-i acoperă. Se întâlnesc și baze ale pețiolilor frunzelor despărțite de rizomi. Rizomii au lungimea de circa 5-20 cm, grosimea de 2-3 cm, iar împreună cu bazele pețiolilor ating 5-7 cm grosime. Bazele pețiolilor au 4-6 cm lungime, 0,8-1 cm grosime, sunt slab recurbate, așezate pe rizomi imbricat și orientate în sus către centrul

de dezvoltare, dispuse foarte aproape una de alta. În secțiune transversală rizomul este de formă multiunghiulară neregulată, bazele pețiolilor rotund triunghiulare sau ovale. La exterior rizomii și pețiolii sunt cafenii, acoperiți cu solzi peliculari, în fractură – granuloși, de culoare verde-deschisă. Pe secțiunea transversală a rizomului se observă 8-10 puncte deschise, așezate în inel (fasciculele conducătoare) și alte de dimensiuni mai mici. Bazele pețiolilor frunzelor au, de obicei, 8 fascicule conducătoare, dispuse în formă de inel întrerupt (în formă de potcoavă).

Gust neplăcut, la început astringent-dulciu, apoi puțin excitant. Mirosul slab specific.

Caractere microscopice: secțiune transversală prin baza pețiolului *(fig. 88)*. Structura anatomică a rizomului și pețiolului este foarte asemănătoare. Epiderma, parțial distrusă, urmată de un strat foarte gros de hipodermă, din 5-8 rânduri de celule cafenii, foarte îngroșate. Parenchimul fundamental este poros, din celule mari rotunde sau ovale, umplute cu granule simple de amidon cu dimensiuni de 4-6 μm.

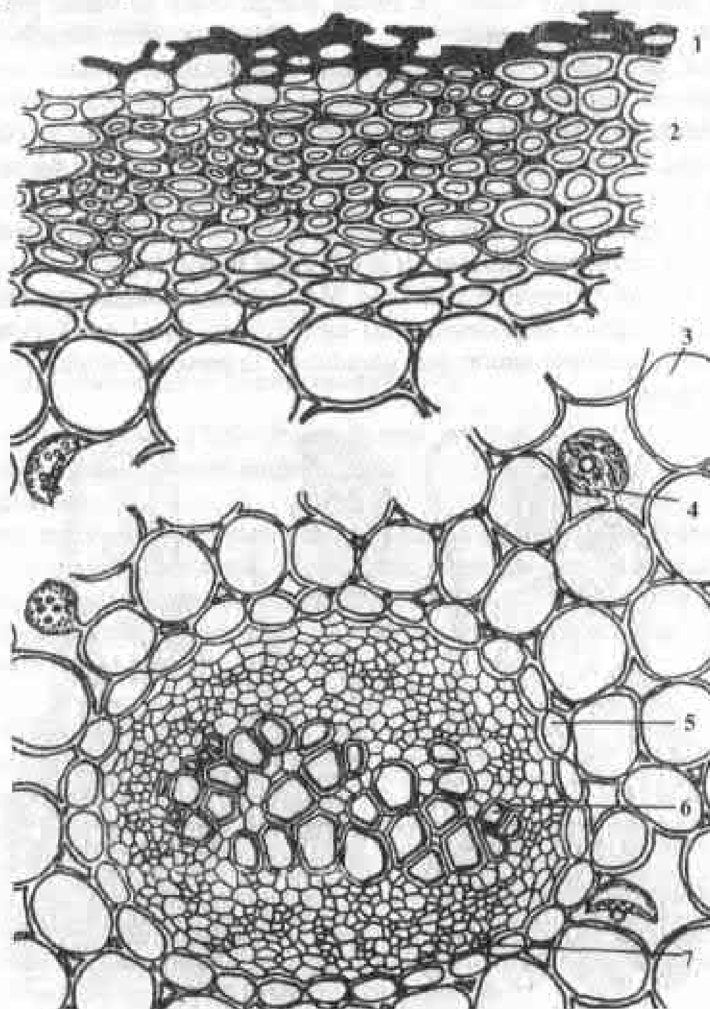


***Fig. 88.* Rizom de ferigă-comună. Fragment de secțiune transversală prin rizom la nivelul fasciculului conducător (x200):** *1* – epidermă; *2* – hipodermă; *3* – celulele parenchimului fundamental; *4* – glande interne; *5* – endodermă; *6* – traheide ale lemnului; *7* – liber

Între celule se întâlnesc glande interne monocelulare, de formă ovală, sferică sau semisferică, la bază alungite într-un piciorus subţire cu care se fixează la celula parenchimului. Conţinutul glandelor granulos sau sub formă de picături verzi-deschise sau verzi-galbene, colorat cu sudan III în roşu-portocaliu. Cel mai mare număr de glande se întâlnesc în straturile periferice ale ţesutului de bază şi în apropierea fasciculelor conducătoare.

Fasciculele conducătoare, în secţitine transversală, sunt ovale, hadrocentrice. Lemnul din traheide mari, scalariforme, grupate, de obicei, în jurul celulelor parenchimului lemnos sub formă de rozetă. Liberul, format din elemente cu pereţii subţiri, este aşezat în jurul lemnului. Endodermul este destul de diferenţiat, membranele celulelor gălbui, slab îngroşate.

O însemnătate diagnostică importantă au solzii cafenii, care acoperă bazele peţiolilor frunzelor (preparat superficial al solzilor în soluţie de cloralhidrat) *(fig. 88)*:

- la *D. filix-mas* (L.) Schott. au formă alungit-ovată cu vârful puternic alungit, ascuţit. Constau din celule lungi, cu nuclee mari, bine vizibile. Pe marginea solzilor, două celule vecine au vârfurile proeminente, formând dinţi dubli.
- *Dryopteris spinuloza* Kuntze are solzii de formă lat-ovală cu vârful ascuţit, constituiţi din celule mai scurte ca la feriga-adevărată, dispuse în rânduri sub un unghi. Pe marginea solzilor se observă glande mici, de formă rotundă sau ovală, pe piciorus scurt.
- Solzii la specia *Arthyrium filix-femina* Roth. se deosebesc prin forma invers-ovată, cu vârful puternic alungit şi marginea întreagă.
- Solzii speciei *Dryopteris austriaca* Woy au formă ovală cu vârful alungit. Pe marginea solzilor se observă dinţi rari, formaţi din 2 sau 4 celule; în vârful solzilor se întâlnesc uneori peri glandulari. În partea centrală a solzului trece o făşie întunecată.

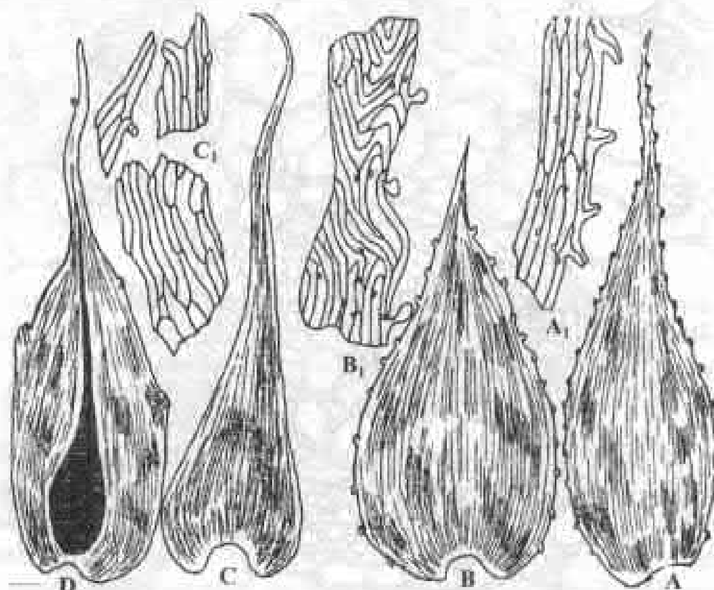


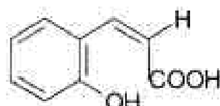
***Fig. 89.* Solzii diferitor specii de ferigă:** *A – Dryopteris filix-mas* (L.) Schott; *B – D. spinuloza* Kunize; *C – Athyrium filix-femina* Roth.; *D – D. austriaca* Woy (x32). Ţesutul solzului pe margine: *A_1 – D. filix-mas*; *B_1 – D. spinuloza*; *C_1 – D. austriaca* (x120)

Impurificări posibile: *Athyrium filix-femina* (L.) Roth. are la baza pețiolilor 2 fascicule, glandele lipsesc, solzii au marginea întreagă. La *Matteuccia struthiopteris* (L.) Todaro rizomii, după formă, se aseamănă cu un bulb mare; la baza pețiolilor sunt dispuse 2 fascicule, glandele lipsesc, solzii au marginea întreagă.

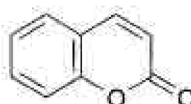
3.12. Produse vegetale cu conținut de cumarine și cromone

Definiție

Cumarinele sunt compuși naturali, la baza cărora se află inelul benzo-α-pironei (lactona acidului cis-orto-hidroxicinamic).



acidul cis-orto-hidroxicinamic



cumarina

Clasificare

În funcție de structura chimică, toate cumarinele cunoscute sunt împărțite în următoarele grupe:

- Cumarine simple și dimeri
- Furanocumarine
- Piranocumarine
- 3,4-benzocumarine
- Cumestroli

3.12.1. Caractere macro- și microscopice

AMMI MAJUS FRUCTUS – fructe de ami

Planta producătoare: ***Ammi majus*** L., ami

Fam. **Apiaceae**

Caractere macroscopice: fructul este o diachenă de formă alungit-ovată; la maturizare se desparte în două mericarpe. Mericarpele pe partea dorsală sunt convexe, cu un șanț pe partea ventrală. Pe partea convexă 5 coaste longitudinale foarte subțiri. Culoarea fructelor mature brună-cenușie sau brună-roșiatică, a celor imature – verde-brună.

Miros specific, gust amărui, astringent.

AMMI VISNAGAE FRUCTUS – fructe de ami

Planta producătoare: ***Ammi visnaga*** (L.) ami.

Fam. **Apiaceae**

Caractere macroscopice: fructul prezintă o diachenă de formă ovată; la maturizare se desparte în două mericarpe. Mericarpele au partea dorsală convexă, puțin comprimate din părți, cu 5 coaste longitudinale; partea ventrală netedă. Produsul vegetal conține fructe atât mature, cât și imature. Mericarpele fructelor mature au 2-2,2 mm lungime și circa 1-1,5 mm lățime. Fructele imature sunt moi, mici, de culoare verde-brună și, de obicei, nu se despart în mericarpe separate.

Miros slab. Gust amărui, ușor astringent.

ANETHI FRUCTUS – fructe de mărar

Planta producătoare: ***Anethum graveolens*** L. – mărar

Fam. **Apiaceae**

Caractere macroscopice: fructul este o diachenă care la maturizare se desparte în două mericarpe ovale sau lat eliptice, având lungimea de 5 mm, comprimate pe partea dorsală, cu 5 coaste longitudinale, dintre care 3 dorsale sunt înguste, carenate, 2 laterale – aripate, deschise. Cu ajutorul lupei, în vârful fructului se observă resturile caliciului și stilului. Culoarea fructelor brună-deschisă sau galbenă-deschisă.

Miros aromat, specific, gust condimentat.

ANGELICAE RADICES – rădăcini de angelică

Planta producătoare: ***Angelica archangelica*** L. (syn. ***A. officinalis*** Hoff) angelică (buciniș)

Fam. **Apiaceae**

Caractere macroscopice: rădăcini ramificate, cu numeroase zbârcituri și striuri dure, elastice, de culoare cenușie-negricioasă.

Miros aromat și gust iute.

Caractere microscopice: secțiunea transversală prin rădăcină prezintă o structură secundară cu fascicule libero-lemnoase cuneiforme, despărțite de raze medulare din 2-4 rânduri de celule. În liber și în aerenchimul cortical se găsesc canale secretoare, dispuse radiar.

FRAXINI FOLIA – frunze de frasin și mojdrean

Plante producătoare: ***Fraxinus excelsior*** L. frasin și ***F. ornus*** L. mojdrean

Fam. **Oleaceae**

Caractere macroscopice: frunze imparipenat compuse din 7-13 foliole ovat-lanceolate, mai rar ovate sau eliptice, acuminate, cu baza cuneată, sesile *(F. excelsior)* sau scurt petiolate *(F. ornus)*, cu marginea serată și nervațiunea penată, pubescente pe partea inferioară, în dreptul nervurii mediane *(F. ornus)*. Lungimea foliolelor 5-7 cm, lățimea de 2-3 cm, culoarea verde pe ambele fețe.

Gust amărui, mirosul lipsește.

Caractere microscopice: secțiunea transversală prin limbul frunzei prezintă o structură heterogen asimetrică, fascicul libero-lemnos colateral în formă de litera „V", periciclu colenchimatos, peri tectori unicelulari, verucoși, peri glandulari cu piciorus scurt unicelular și glandă pluricelulară, din celule dispuse în evantai.

MELILOTI HERBA – părți aeriene de sulfină-galbenă

Planta producătoare: ***Melilotus officinalis*** (L.) Lam. – sulfină-galbenă

Fam. **Fabaceae**

Caractere macroscopice: produsul conține o cantitate nu prea mare de tulpini subțiri fracturate, frunze, în majoritatea cazurilor mărunțite, flori. Tulpinile în diametru au 1-2 cm, cu coaste puțin evidente și fin striate longitudinal, cavitare. Frunzele trifoliat-compuse, cu 2 stipele la baza pețiolului. Foliolele ovate sau obovate, cu marginea fin serată. Foliolele laterale scurt pețiolate, cele mijlocii – cu pețiol mai lung (circa 0,5 cm).

În produsul vegetal sunt flori mici, numeroase, în majoritatea cazurilor separate de inflorescență. Caliciul companulat, brun-verzui, cu 5 dinți triunghiulari, lanceolați. Coro-

la galbenă, zigomorfă, de tipul papelioceelor. Stindardul este aproape egal vâslelor și e mai lung ca luntrișoara. Stamine sunt 10, una liberă până la mijloc, celelalte unite la nivelul filamentelor. Gineceul cu ovar superior gol, alungit.

În produsul vegetal pot fi fructe imature în număr mic. Fructul este o păstaie cu 1 sau 2 semințe mici, de formă ovată, cu vârful stiloid.

Produsul vegetal are un miros puternic caracteristic de fân proaspăt uscat (cumarine).

Caractere microscopice: preparat superficial din foliolă (*fig. 90*). Celulele epidermei superioare au contur poligonal sau ondulat, a celei inferioare – cu contur puternic ondulat. Deasupra nervurilor, celulele epidermei sunt mai mult alungite, cu pereți laterali drepți. Pe ambele epiderme se observă stomate, într-un număr mai mare pe cea inferioară. Ele sunt ovale, puțin adâncite, înconjurate de 3-4 celule ale epidermei. Cuticula, pe marginea frunzei și pe nervuri, longitudinal cutată.

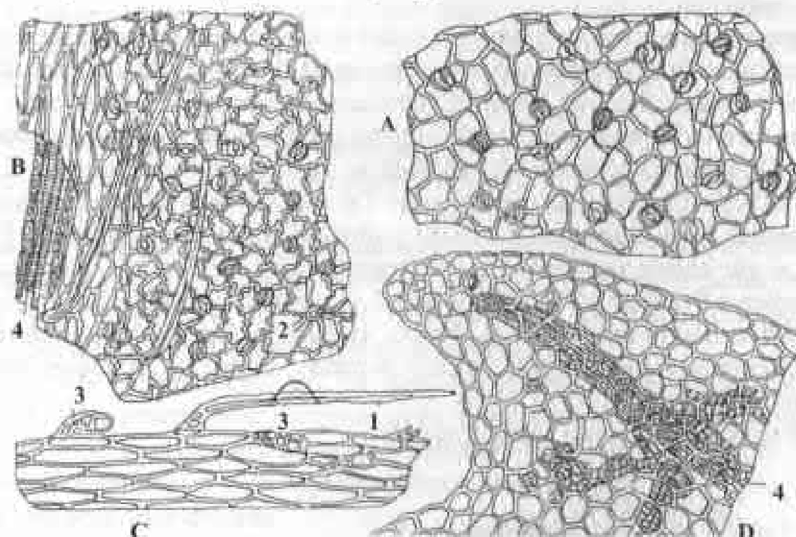


Fig. 90. **Preparat superficial din frunza de sulfină-galbenă (x280).**
A – epiderma feței superioare; *B* – epiderma feței inferioare; *C* – epiderma pe nervură (partea superioară); *D* – fragment al foliolei pe margine (dintele foliolei). *1* – peri tectori; *2* – locul de fixare al părului tector; *3* – peri glandulari; *4* – nervură cu înveliș cristaligen

Pe fața inferioară, mai ales pe nervuri și la baza foliolei, se întâlnesc peri tectori și glandulari. Perii tectori au 1-2 celule mici dispuse la bază și una lungă terminală cu o cavitate puțin vizibilă și o membrană groasă cu suprafața neuniformă, striată. Celula terminală lungă se află sub un unghi nu prea mare față de celulele bazei, de aceea firul de păr este alipit de suprafața frunzei. Perii sunt fixați de o celulă nu prea mare, rotundă, a epidermei în jurul căreia celulele însoțitoare ale acesteea formează deseori o rozetă. Celula terminală a părului se rupe des. Perii glandulari au pereții subțiri și constau dintr-un piciorуș format din 1-2 celule și o glandă ovală din 1-4 celule străvezii sau cu un conținut brun-deschis. Se întâlnesc cel mai des pe nervuri. Pe fața superioară a foliolelor perii se observă rar.

În nervura principală și în cele secundare mai mari, în afară de vase, se văd fibre lungi, cu contur neuniform și membrane slab îngroșate, străbătute de pori rari fisurați. Nervurile mari au teacă cristaligenă cu cristale prismatice de oxalat de calciu. Pe ner-

vurile mai mici, învelişul cristaligen formează insuliţe sau acesta lipseşte. Numeroasele ramificaţii mici ale nervurii constau din traheide scurte, cu contur complicat şi cu o îngroşare în formă de spirală, învelişul cristaligen lipseşte. Fiecărui dinte al foliolei îi corespunde o ramificaţie relativ mare a nervurii cu teacă cristaligenă. La capătul lui celulele epidermei au membrane foarte subţiri, de obicei uşor alungite, formând mamele acoperite cu o cuticulă subţire, fin cutată. Stomatele aici sunt rotunde, mult adâncite.

Microscopie luminescentă. La studierea frunzelor uscate mărunţite, fără lichid de includere în lumina albastră-violetă, toate elementele frunzei sunt galben-verzui şi verzi-gălbui de nuanţe extrem de vii. În lumină ultravioletă fluorescenţa este mai palidă.

PASTINACAE FRUCTUS – fructe de păstârnac

Planta producătoare: ***Pastinaca sativa*** L. – păstârnac

Fam. **Apiaceae**

Caractere macroscopice: fructul prezintă o diachenă care la maturizare se desparte în două mericarpe eliptic-rotunjite, uşor biconvexe, cu lungimea de 6-8 mm, lăţimea de 5-6 mm, cu 5 coaste; 2 coaste laterale concrescute formează un chenar puţin îngroşat pe margine, care înconjoară mericarpul, 3 coaste subţiri, filiforme, sunt aranjate pe partea spinală. De la vârful mericarpului spre bază se întind canale secretoare, care nu ajung la bază cu 1/5-1/3 din lungimea mericarpului. Cel mai des se întâlnesc 6 canale: 4 sunt aşezate pe partea dorsală, între coaste, 2 – pe partea comisurală (abdominală). Există, de asemenea, şi alte canale secretoare care, de regulă, sunt mai scurte ca celelalte.

La fierberea fructelor în apă cu glicerol (1:1), ţesuturile superficiale ale pericarpului devin străvezii şi în canale se pot observa, cu ajutorul lupei (x10) sau stereomicroscopului, membrane transversale (canale septate). Suprafaţa fructului este mată, culoarea brună-deschisă.

Miros aromat, gust condimentat (picant).

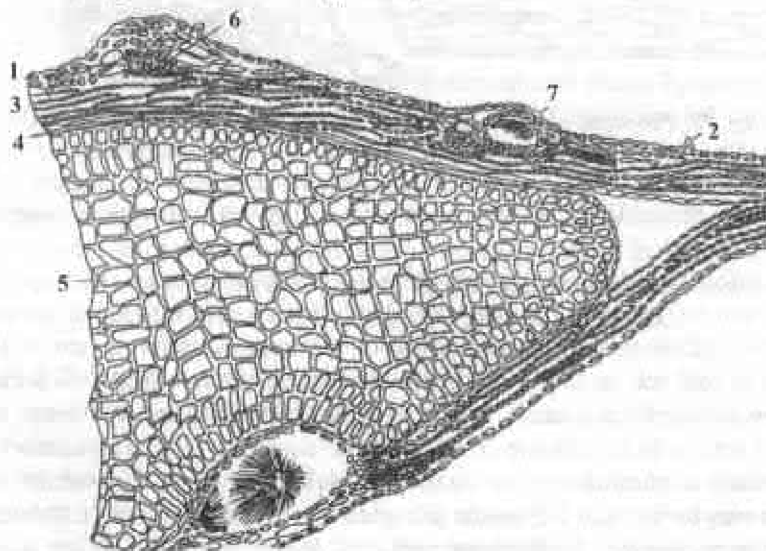


Fig. 91. **Fragment din secţiunea transversală prin mericarpul fructului de păstârnac (x280):** *1* – epidermă; *2* – peri mamelari; *3* – fibre mecanice ale mezocarpului; *4* – endocarpul şi tegumentul seminal; *5* – endospermul seminţei; *6* – fascicul conducător; *7* – canale secretoare cu cristale de cumarine; *8* – coastă cu fascicul conducător

Caractere microscopice: secțiune transversală prin mericarpul fructului *(fig. 91)*. Stratul exocarpului (epidermei) constă din celule ovale, care uneori formează peri mamelari unicelulari. Partea exterioară a mezocarpului constă din unul sau câteva straturi de celule parenchimatice. Mezocarpul este format, în principal, dintr-un înveliș mecanic puternic, care constă din fibre de diferită orientare – de la vertical până la orizontal. Membranele fibrelor sunt îngroșate, lignificate, pătrunse de pori. Endocarpul concrește strâns cu tegumentul seminal alcătuit din celule presate de culoare brună-gălbuie. Endospermul seminței constă din celule mari și conține ulei gras, aleuronă, druze mici de oxalat de calciu. Prin coaste trec fascicule conducătoare, deasupra cărora sunt așezate canale foarte mici cu conținut brun-gălbui sau brun-roșiatic. În pericarp, între coaste, precum și pe partea comisurală, se observă canale secretoare mari. Pe secțiunea transversală se vede bine stratul secretor al canalului; cavitatea canalului este umplută cu un conținut uleios, iar pe alocuri cu o masă granuloasă albă în care se observă cristale aciculare de furocumarine. În lumina ultravioletă (microscop luminescent) aceste cristale manifestă o fluorescență verde-gălbuie (cumarine).

PEUCEDANI RADICES – rădăcini de peucedan

Planta producătoare: ***Peucedanum morisonii*** Bess; ***P. ruthenicum*** M.B. – peucedan

Fam. **Apiaceae**

Caractere macroscopice: în produsul vegetal rădăcinile sunt tăiate în bucăți. Rădăcinile ambelor specii sunt pivotante, slab ramificate, cele mari au în partea bazală diametrul de circa 7–8 cm, cele mai mici – 0,5-0,8 cm. Sunt acoperite cu un suber brun-închis. În fractură se observă lemnul galben și scoarța albă.

La studierea cu lupa (x10) sau cu stereomicroscopul, în scoarță se văd canale secretoare din care proemină un conținut, ce se transformă într-o masă albă-gălbuie. În lumina ultravioletă această masă are o fluorescență galbenă-verzuie aprinsă.

Produsul vegetal are un miros specific puternic, mai ales la frângere.

Gust neplăcut, ușor dulceag.

Caractere microscopice: secțiune transversală prin rădăcină (*fig. 92*). La exterior se vede suberul format din mai multe straturi; scoarța rădăcinii este străbătută de numeroase canale secretoare, formate dintr-un strat de celule secretoare cu un conținut galben-verzui.

Pe secțiunea transversală a rădăcinii, canalele secretoare sunt dispuse în cercuri concentrice, lângă cambiu sunt mici, spre suber – cu mult mai mari. Linia cambiului este îngustă. Lemnul este radial, împărțit de razele medulare în părți radiale. Celulele parenchimului scoarței și lemnului conțin amidon, mai ales cele care înconjoară canalele secretoare. Granulele de amidon sunt simple, rotunde, cu dimensiuni între 2 și 8 μm.

Microscopie luminescentă. Pe preparatul în glicerol sau fără lichid de includere, în conținutul canalelor secretoare se observă cristale aciculare subțiri de peucedanină, caracterizată printr-o luminescență galbenă-verzuie-aprinsă (lumina ultravioletă). Suberul brun-închis, mat, parenchimul scoarței aprins, albăstrui-albicios, membranele vaselor verzi sau verzi-cenușii, palide.

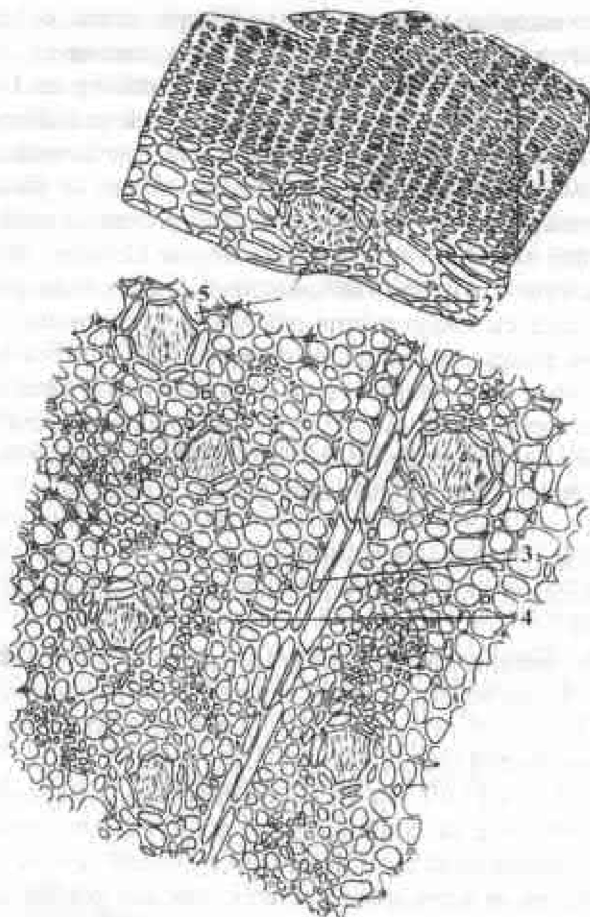


***Fig. 92.* Secțiune transversală prin scoarța radacinii de *Peucedanum morisonii* (x280):**
1 – suber; *2* – feloderma; *3* – elemente conducătoare ale liberului; *4* – raze medulare;
5 – canale secretoare (se văd cristale de peucedanină)

3.12.2. Analiza chimică

Proprietăți fizico-chimice. Extrase în stare individuală, cumarinele sunt substanțe cristaline, incolore sau puțin gălbui. Se dizolvă bine în solvenți organici: cloroform, eter, alcool etilic, grăsimi, uleiuri, de asemenea în soluții alcaline (mai ales la încălzire), datorită formării sărurilor acizilor oxicinamici. În apă, în majoritatea cazurilor, sunt insolubile. Heterozidele se dizolvă, de obicei, în apă și sunt practic insolubile în solvenții organici.

La încălzire până la 100 °C cumarinele se sublimă sub formă de cristale aciforme. Multe cumarine la excitarea UV manifestă, în regiunea vizibilă a spectrului, fluorescență caracteristică în soluții alcoolice neutre, în soluții bazice și în acid sulfuric concentrat. Prin aceasta se deosebesc, mai ales, derivații umbeliferonei, care manifestă fluorescentă albastră. În mediu bazic aceasta e mai intensă, iar la acidulare fluorescența devine mai puțin intensă și caracterul ei se schimbă.

În spectrele de absorbție electronică a cumarinelor se observă frecvențe caracteristice: în regiunea mai mare de 200 nm sunt două fâșii de absorbție: 210-270 și 290-350 nm *(fig. 93)*.

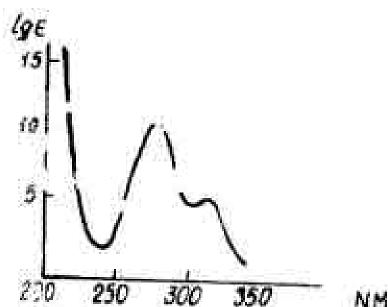


***Fig. 93.* Spectrul ultraviolet al cumarinei**

Trăsătura caracteristică a acestor spectre de absorbție este determinată de cromofor, care include ciclul α-pironic, conjugat cu ciclul benzenic.

Cumarinele au spectru de absorbție caracteristic și în regiunea infraroșie. La cumarine, ca și la α-pirone, fâșiile oscilațiilor de valență ale grupei carbonile se află în regiunea 1750-1700 cm^{-1}; în afară de aceasta, cumarinele dau fișii de absorbție evidențiate în regiunea 1620-1470 cm^{-1}, determinate de oscilațiile legăturilor duble aromatice *(fig. 94)*.

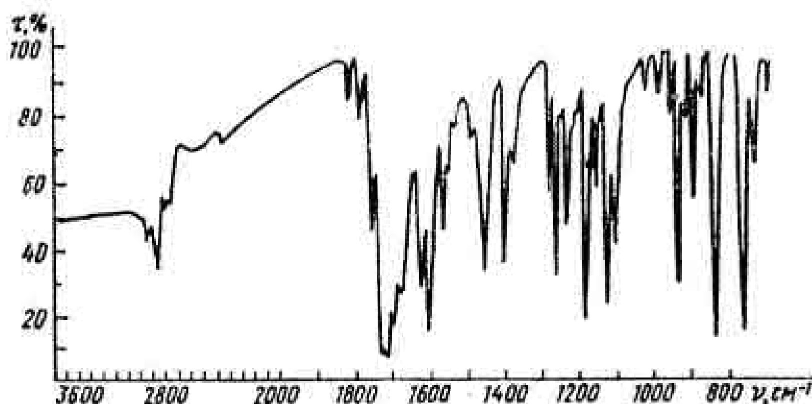


***Fig. 94.* Spectrul infraroșu al cumarinei**

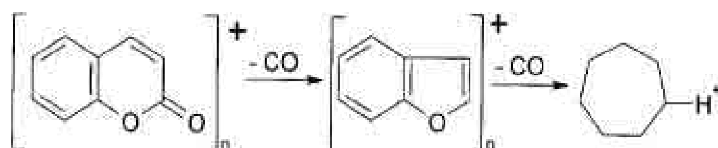
În ultimul timp, pe lângă spectroscopia ultravioletă și infraroșie, o mare importanță a căpătat metoda rezonanței nuclear-magnetice a spectrelor de înaltă rezonanță. Spectroscopia rezonanței nuclear-magnetică, ca și alte metode fizice de cercetare, se aplică în scopurile structural-chimice și se bazează pe corelația dintre spectre și structura cunoscută. Analiza spectrelor permite de a stabili caracterul înlocuirii în ciclul cumarinic.

Astfel, spectrele apar în urma ionizării disociative ca rezultat al bombardării moleculelor cu electroni. La bombardarea compușilor chimici, când se atinge energia suficientă pentru ionizarea acestor compuși, adică puțin mai înaltă decât potențialul de ionizare, în spectre se pot obține ioni moleculari. Cu mărirea energiei electronilor

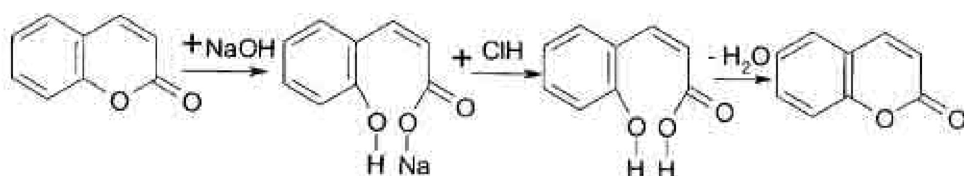
crește gradul de ionizare și ionii moleculari, căpătând un surplus de energie, pot forma ioni-fracții. Drept urmare, spectroscopia se folosește la analiza calitativă și cantitativă, la stabilirea structurii compușilor organici.

S-a constatat că ionul molecular nu se manifestă la toate cumarinele. Astfel, spectrele cumarinelor se caracterizează prin vârful intensiv al ionului molecular (M+), de asemenea vârfurile M^{+} = 28 și M^{+}= 2x28, ce corespund pierderii solitare sau duble a CO.

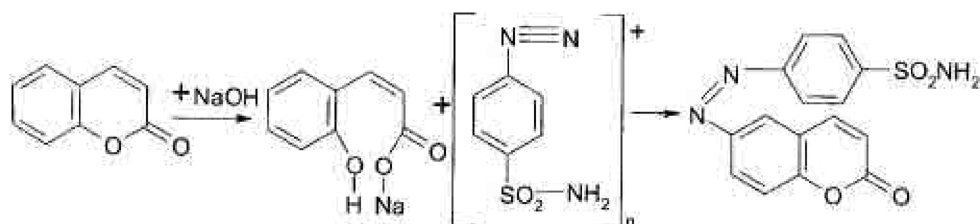
Fragmentarea cumarinei sub acțiunea loviturii din partea electronilor poate fi demonstrată prin următoarea schemă:



Sistemul ciclic al cumarinei, alcătuit din ciclul benzenic și ciclul heterociclic α-pironic, determină posibilitatea diferitor reacții chimice. Una dintre cele mai caracteristice proprietăți ale cumarinelor ca lactone este atitudinea specifică față de bază (cu acizii și amoniacul cumarinele nu reacționează). Sub acțiunea bazei fierbinți, cumarinele hidrolizează încet, formând soluții de culoare galbenă ale sărurilor acidului cumaric. La acidularea soluțiilor bazice sau saturarea lor cu CO_2, cumarinele regenerează.



La interacțiunea sărurilor de diazoniu cu cumarinele în mediu slab bazic grupa ArNa intră în reacție în poziția 6 a sistemului cumarinic, adică în para-poziție față de hidroxilul fenolic al acidului cumarinic.



Izolare. Pentru izolarea cumarinelor din produsul vegetal se folosesc diferiți solvenți: alcool metilic și etilic, benzen, cloroform, eter etilic și eter de petrol.

Cea mai completă extracție a cumarinelor libere și a celor legate (heterozide) se realizează cu alcoolul etilic. După distilarea alcoolului, extractul dens este tratat consecutiv cu diferiți solvenți: cloroform, eter dietilic etc.

În unele cazuri e mai rațional de a trata produsul vegetal în prealabil cu eter de petrol și pe urmă de a efectua extragerea cu cloroform, alcool etilic, alcool metilic.

În scopul separării cumarinelor de substanțele asociate, extractul concentrat se tratează cu soluție apoasă de KOH de 0,5 % pentru a înlătura componenții acizi și fenolici. Apoi extractul e tratat cu soluție de KOH de 5 % timp de 30-60 minute. Între

timp cumarinele formează săruri ale acizilor cumarinici. Concomitent se produc şi alte reacţii: saponificarea grăsimilor şi a altor esteri. Componenţii indiferenţi ai extractului (sterine, alcooli, hidrocarburi etc.) sunt înlăturaţi prin tratarea cu eter etilic a soluţiei bazice, în prealabil diluată cu un volum de apă de 6-8 ori mai mare. Soluţia obţinută este acidulată cu HCl diluat. Aceasta duce la eliberarea acizilor organici, iar acizii cumarinici, prezenţi aici, desprind molecula de apă şi se transformă în cumarine. Amestecul de acizi şi cumarine este extras cu eter etilic la agitare energică repetată. Părţile componente ale fracţiunii lactonice cu caracter acid pot fi înlăturate adăugând în picături soluţie apoasă de bază de 0,5 %. Ele trec în soluţia apoasă, pe când cumarinele neutre, fiind mai rezistente la soluţii bazice, rămân în eterul etilic.

Prin această metodă de izolare a cumarinelor e dificil de a evita scindarea lor. De aceea, pentru separarea cumarinelor de substanţele asociate şi pentru izolarea compuşilor individuali se folosesc mai multe metodele cromatografice. În calitate de absorbant la cromatografierea cumarinelor de cele mai multe ori se foloseşte oxidul de aluminiu şi silicagelul. Cumarinele se eluează bine de pe coloane cu un amestec de eter de petrol cu cloroform, benzen, amestec din benzen şi alcool metilic (diferite proporţii) etc. Uleiurile volatile, gliceridele, steroizii şi triterpenele apar, de obicei, în primele fracţii ale eluatului, pe urmă cumarinele.

Cumarinele în coloană şi în eluat pot fi identificate după fluorescenţa la lumina ultravioletă. Pentru analiza calitativă a eluaţilor se foloseşte cromatografia pe hârtie şi în strat subţire, care stabilesc repede omogenitatea eluatului şi identifică cele mai neînsemnate cantităţi de impurităţi.

Determinarea calitativă

Pentru depistarea cumarinelor în produsul vegetal se folosesc proprietăţile lactonice, proprietăţile de a manifesta fluorescenţă la lumina ultravioletă şi de a forma soluţii colorate cu diazocompuşii, microsublimarea şi analiza cromatografică a extractelor alcoolice sau cloroformice.

Din cauza solubilităţii slabe a cumarinelor în apă şi a bunei solubilităţi în fazele nepolare, separarea cumarinelor se efectuează prin metoda cromatografiei pe hârtie impregnată.

În calitate de fază mobilă se folosesc benzina, eterul de petrol (temperatura de fierbere 60-100 °C), amestecul eter de petrol-benzen-alcool metilic (5:4:1); iar în calitate de fază imobilă – soluţia apoasă de etilenglicol sau propilenglicol de 20 %, formamidă de 10 % în alcool metilic. Ca regulă, cu faza imobilă se îmbibă hârtia cromatografică. Cromatografierea se efectuează prin metoda descendentă timp de 1,5-2 ore. După ce se usucă, cromatograma e privită la lumina ultravioletă. În funcţie de structură, cumarinele manifestă fluorescenţă azurie, albastră, violetă, verde, galbenă; petele fluorescenţei se însemnă, apoi cromatograma se tratează cu bază, se plasează în dulapul pentru uscare la 120 °C şi din nou e privită la lumina ultravioletă; de obicei, fluorescenţa se intensifică. După aceasta, cromatograma se tratează cu sulfanilamid diazotat, de la a cărui acţiune cumarinele, în funcţie de structură, capătă culorile portocalie, portocalie-roşie, violetă. În unele cazuri, după examinarea la lumina ultravioletă, cromatograma este tratată cu reactivul *Dragendorff* sau cu iod. Cumarinele se developează sub formă de pete de culoare cafenie.

În afară de cromatografia pe hârtie se folosește cromatografia în strat subțire de oxid de aluminiu sau silicagel. Separarea bună a cumarinelor în strat subțire a fost atinsă atunci când s-au folosit următoarele sisteme de solvenți: etilacetat–benzen (1:2); cloroform–eter de petrol (1:2).

Revelarea cumarinelor pe cromatogramă se efectuează ca în cazul cromatogramelor pe hârtie.

Pregătirea extractului din produsul vegetal. La 2 g produs vegetal mărunțit (fructe de ami, păstârnac, psoralee), se adaugă 20 ml alcool etilic și se fierbe 15 minute cu refrigerent ascendent. După răcire se filtrează.

Reacțiile calitative:

- La 3-5 ml extract alcoolic se adaugă 10 picături de KOH 10 % în alcool metilic. Amestecul se încălzește 5 minute la baia de apă (în prezența cumarinelor soluția se îngălbenește). După aceasta se adaugă 5 picături de diazoreactiv *Pauli* după *Kutacek*, proaspăt pregătit. La prezența cumarinelor, soluția obține o culoare de la roșie-cafenie până la vișinie.
- La 3-5 ml de extract alcoolic se adaugă 10 picături de KOH de 10 % în alcool metilic. Amestecul se încălzește la baia de apă. Se adaugă 5-10 ml de apă distilată și se amestecă bine, apoi soluția se neutralizează cu HCl 10 % până la reacție acidă. Observarea opalescenței sau precipitatului denotă prezența cumarinelor în produsul vegetal (proba lactonică).

Determinarea cromatografică:

- 0,01 ml extract alcoolic se aplică pe placă și se cromatografiază în sistemul n-hexan-benzen-alcool metilic (5:4:1), până când linia frontului va atinge distanța de 10 cm de la linia de start. Apoi cromatograma se usucă 10 minute la aer, se stropește cu KOH 10 % în alcool metilic și se plasează pe 2-3 minute în dulapul pentru uscare la temperatura de 110-120 °C. După aceasta se pulverizează cu reactivul Pauli după *Kutacek* proaspăt pregătit. Dacă în produsul vegetal se conțin cumarine, pe cromatogramă apar spoturi roșii-cărămizii, albastre-violete, în funcție de structura cumarinelor.
- 0,01 ml extract alcoolic se aplică pe o fâșie de hârtie cromatografică de marca „B" cu dimensiunile 14×65 cm, în prealabil impregnată cu formamidă 10 % în alcool metilic. Cromatografierea se efectuează prin metoda descendentă în sistemul de solvenți eter de petrol–benzen–alcool metilic (5:4:1) timp de 3-4 ore. Cromatograma se usucă 10 minute la aer, se developează cu KOH 10 % în alcool metilic, se instalează pe 2-3 minute în dulapul pentru uscare la 110-120°C, pe urmă se stropește cu diazoreactivul *Pauli* după *Kutacek*. Dacă produsul vegetal conține cumarine, pe cromatograma apar spoturi de la roșii-cărămizii până la albastre-violete.

Identificarea cumarinei din *Mellilotі herba* prin CSS

Soluția de analizat: 1 g produs vegetal pulverizat se extrage cu 10 ml metanol, timp de 30 de minute, la reflux pe baia de apă; filtratul obținut se concentrează.

Soluția etalon: soluție metanolică de cumarină 1 %.

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: toluen:eter etilic (1:1 saturat cu acid acetic de 10 %).

Revelare: pulverizare cu soluție alcoolică KOH 5 %, apoi examinare în UV.

Rezultate: cumarina (Rf = 0,6) prezintă fluorescentă verzuie.

Identificarea umbeliferonei din *Angelicae radices* prin CSS

Soluția de analizat: 1 g de produs vegetal pulverizat se extrage cu 10 ml metanol, timp de 30 de minute, la reflux pe baia de apă; filtratul obținut se concentrează.

Soluția etalon: soluție metanolică de umbeliferonă 1 %.

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: toluen:eter etilic (1:1 saturat cu acid acetic de 10 %).

Revelare: pulverizare cu soluție alcoolică KOH 5 %, apoi examinare în UV.

Rezultate: umbeliferona (Rf=0,45) prezintă fluorescentă albastră-luminoasă.

Identificarea chelinei și visnaginei din *Ammi visnagae fructus* prin CSS.

Soluția de analizat: 1 g produs vegetal pulverizat se extrage cu 10 ml metanol, timp de 30 de minute, la reflux pe baia de apă; filtratul obținut se concentrează.

Soluții etalon: soluții metanolice 1% de chelină și visnagină.

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: toluen:eter etilic (1:1 saturat cu acid acetic de 10 %).

Revelare: pulverizare cu soluție alcoolică KOH 5 % apoi examinare în UV.

R*ezultate*: chelina (Rf = 0,25) prezintă fluorescență brună; visnagina (Rf = 0,20) – fluorescență albăstruie.

Determinarea cantitativă

La determinarea cantitativă a cumarinelor se iau în considerare anumite proprietăți specifice ale acestora. Proprietatea ciclului lactonic al cumarinei de a se deschide și de a se închide în funcție de pH-ul mediului se folosește în *metoda gravimetrică* de determinare a totalului cumarinelor în produsul vegetal. Comportarea specifică a cumarinelor față de bază este utilizată în *metoda de neutralizare* (titrarea inversă, a excesului), care se folosește atât la determinarea totalului cumarinelor, cât și a compușilor individuali. Proprietatea de a forma soluții stabile de culoare roz-portocalie și roz-purpurie cu sulfamide diazotate în mediu bazic se folosește în *metodele colorimetrice* de determinare cantitativă a totalului de cumarine și a compușilor individuali. Fluorescența la excitarea ultravioletă în regiunea vizibilă stă la baza *metodelor fluorimetrice* de determinare cantitativă a cumarinelor.

Pentru determinarea cantitativă a cumarinelor se aplică și metode spectrofotometrice la care se iau în considerare schimbarea densității optice a soluțiilor de cumarine la lungimea de undă a maximului de absorbție în regiunea ultravioletă a unei sau altei cumarine, în funcție de concentrația ei pe baza indicilor specifici de absorbție. Metodele colorimetrice, fluorimetrice și spectrofotometrice sunt precedate de separarea cromatografică a cumarinelor pe hârtie și în straturi subțiri, de aceea se numesc cromato-optice.

Determinarea cantitativă a cumarinelor se efectuează și prin *metoda polarografică*.

Diversitatea metodelor de determinare cantitativă a cumarinelor permit alegerea corectă a metodei pentru analiza produsului vegetal, în funcție de structura cumarinelor naturale.

Determinarea cantitativă a cumarinelor în *Ammi maidis fructus* **prin metoda cromatospectrofotometrică**

Aproximativ 2 g (probă exactă) de produs vegetal mărunțit, trecut prin sita cu dimensiunile oricifiilor de 0,16 mm, se macerează 2 ore cu 120 ml de cloroform în aparatul *Soxlet* (12-15 scurgeri). Extractul cloroformic se filtrează, iar cloroformul se înlătură prin evaporare în vid. Reziduul uscat se dizolvă în cloroform la încălzire slabă

şi se trece cantitativ în picnometrul calibrat de 5 ml. 0,02 ml din soluţia obţinută se aplică cu micropipeta pe linia de start a cromatogramei.

Ulterior, cromatograma se impregnează cu formamidă 10 % în alcool metilic; se usucă la aer 4 min şi se cromatografiază 5-6 ore pe hârtie prin metoda descendentă în sistemul n-heptan-benzen (4:1) la 19-20 °C. Apoi cromatograma se instalează pe 2 ore în dulapul pentru uscare la 40-50 °C şi se examinează la lumina ultravioletă. Spoturile bergaptenei cu $R_f = 0,63$ şi izopimpinelinei cu $R_f = 0,53$ se conturează cu creionul şi se taie. Aceste bucăţi de hârtie se introduc în baloane cu şlif de 10-15 ml, se toarnă 5 ml de alcool etilic 95 % şi se lasă pentru 10-12 ore, apoi se încălzeşte 10 minute pe baia de apă la temperatura 40 °C. Eluatul se filtrează şi se spectrofotometrează în cuva cu grosimea stratului de 1 cm pe fondul eluatului pe o bucată curată a aceleiaşi cromatograme. Densitatea optică a soluţiilor se măsoară la următoarele lungimi de undă: pentru izopimpinelină – 313 nm; bergaptenă – 311 nm. Conţinutul procentual al izopimpinelinei şi bergaptenei *x* se află după formula:

$$x = \frac{V_1 \times V_3 \times D_2 \times 1,045 \times 100}{V_2 \times m \times E^{1\%}_{1cm} \times (100 - \omega)},$$

în care: V_1 – volumul extractului, ml; V_2 – volumul extractului aplicat pe cromatogramă, ml; V_3 – volumul eluatului, ml; m – masa produsului vegetal (probă exactă), g; $E^{1\%}_{1cm}$ – indicele specific al absorbţiei: pentru izopimpinelină – 518, bergaptenă – 651; D_2 – densitatea optică a eluatului; ω – pierderea din masa produsului vegetal la uscare, %.

Cantitatea de izopimpinelină în produsul vegetal trebuie să fie nu mai puţin de 0,3%, de bergaptenă – nu mai puţin de 0,15% în raport cu produsul vegetal absolut uscat.

Determinarea cantitativă a cumarinelor în *Pastinacae sativae fructus* **prin metoda polarografică**

Aproximativ 2 g (probă exactă) de fructe mărunţite (trecute prin sita cu diametrul orificiilor de 0,5 mm) se supun extracţiei 2 ore cu 100 ml de alcool etilic 95 % la baia de apă, în balon cu refrigerent ascendent. Extractul alcoolic se pune în balonul de evaporare. Procedeul de extragere se repetă cu 50 ml alcool etilic de 95 % la încălzire timp de 10 minute.

Din extractele alcoolice se înlătură alcoolul, iar reziduul se trece cantitativ în balonul gradat de 10 ml şi se toarnă alcool etilic de 95 % până la cotă. 0,2-0,4 ml (volum exact) din extractul obţinut se aduce la volumul de 5 ml cu alcool etilic 95 %, se adaugă 3 ml tetraetilamoniuiodură 5 % în alcool etilic 50 %, se lasă să treacă hidrogenul 5-10 minute şi se polarografiază la polarizarea catodică în intervalul 1,00-1,6 V (faţă de anodul intern).

Paralel se polarografiază soluţia alcoolică de referinţă ce conţine 0,0001 g de xantotoxină în 1 ml soluţie.

Cantitatea procentuală a furocumarinelor *x* pentru xantotoxină se află după formula:

$$x = \frac{A \times H_x \times V_2 \times 100}{H \times V_1 \times m},$$

în care: *A* – cantitatea xantotoxinei în soluţia de referinţă, g; *H* – înălţimea undei soluţiei de referinţă, mm; H_x – înălţimea undei soluţiei cercetate, mm; V_2 – volumul extractului pentru polarografiere, ml; *m* – masa exactă a produsului vegetal absolut uscat, g.

Cantitatea procentuală a totalului furocumarinelor, în raport cu produsul vegetal absolut uscat, nu trebuie să fie mai mică de 1 %.

Metoda generală de dozare a cumarinelor se bazează pe reacția de culoare a sărurilor acizilor hidroxiaromatici, rezultați din scindarea lactonei, cu sărurile de diazoniu.

Tehnica de lucru: 0,5000 g produs vegetal pulverizat se triturează cu 1 g nisip de mare și 1 ml apă. Se lasă 1 oră în repaus în termostat (40 °C), apoi se triturează cu un amestec din 5 ml etanol și 10 ml eter, adăugat în picături. Se lasă să sedimenteze și se filtrează. Procedeul se repetă de 2 ori; soluțiile extractive reunite se lasă în repaus 24 ore la temperatura camerei (pentru evaporarea eterului), apoi se introduc într-un balon cotat de 100 ml. Se completează până la cotă cu acid sulfuric de 0,05 N, se agită pentru omogenizare și se menține 30 minute la 70 °C, într-o baie de apă; se răcește și se filtrează (soluția A).

Într-un balon cotat de 50 ml se introduc 5 ml soluție A, se adaugă 5 ml carbonat de sodiu 7 % și se încălzește 5 minute la 85 °C, în baia de apă. Se răcește până la temperatura camerei, se adaugă 5 ml acid sulfuric 0,05 N (se agită) și 5 ml clorură de p-nitrobenzen-diazoniu. Apare o colorație roșie. Se completează cu apă până la cotă și se măsoară imediat absorbanta la λ =510-530 nm.

Cantitatea de cumarină se calculează prin raportarea la curba etalon.

Stabilirea curbei etalon: într-o serie din 6 baloane cotate de 50 ml se iau câte 0,5; 1; 2; 3; 4; 5 ml soluție de cumarină de 0,02 % sau alt derivat corespunzător, la care se adaugă câte 5 ml carbonat de sodiu și se procedează după cum este descris mai sus.

Cantitatea de derivați cumarinici x se determină după formula:

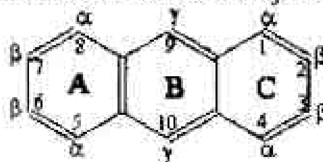
$$x = 500000 \cdot K \cdot Ep / a \cdot V,$$

în care: *a* – cantitatea de produs vegetal luat în lucru pentru 100 ml de soluție extractivă (g); *K* – raportul dintre concentrație și absorbantă rezultat din curba etalon (K = C/A); *Ep* – absorbanta probei la 510 nm; *V* – volumul de soluție A folosit la dozare (ml); *500000* – coeficient rezultat din calculul diluțiilor.

3.13. Produse vegetale cu conținut de derivați ai antracenului și heterozidele acestora

Definiție

Derivații antracenului sunt o grupă de compuși naturali la baza cărora stă nucleul antracenului cu diferit grad de hidroxidare la inelul mijlociu (inelul B):



antracen

Clasificarea

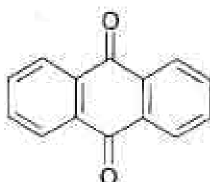
În funcție de structura scheletului de carbon, derivații naturali ai antracenului se clasifică în 3 grupe:

1. Compușii care au la bază un nucleu de antracen (monomeri);
2. Compuși cu două nuclee de antracen (dimeri);

3. Derivații condensați ai antracenului.

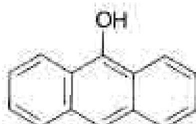
Monomerii, în funcție de gradul de oxidare al nucleului principal, se împart în 2 subgrupe:

a) formele oxidate – la baza lor stă nucleul antrachinonei:

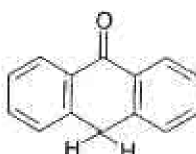


antrachinona

b) formele reduse – derivații antranolului, antronei:



antranol



antrona

3.13.1. Caractere macro- și microscopice

ALOË reprezintă produsul obținut după concentrarea și uscarea sucului din frunzele unor specii de *Aloë: A. ferox* Miller, *A. vera* L., sin. *A. vulgaris* Lam., *A. perryi* Baker *(Liliaceae)*.

Sorturi: *Aloe de Cap* – „aloe lucida" obținut prin concentrarea sucului aloifer la temperaturi ridicate; *Aloe de Curacao* – „aloe hepatica" obținut prin concentrarea sucului aloifer la temperatura camerei, timp îndelungat.

Caractere macroscopice:

Aloe lucida se prezintă sub formă de fragmente translucide, ale căror suprafețe la rupere sunt lucioase, cu marginile transparente și fractura de culoare brună cu reflexe verzui.

Aloe hepatica este formată din bucăți cafeniu-negricioase cu fractura granuloasă.

FRANGULAE CORTEX – scoarță de crușin

Planta producătoare: ***Frangula alnus*** Mill. (syn. ***Rhamnus frangula*** L.) – crușin

Fam. **Rhamnaceae**

Caractere macroscopice: scoarța prezintă fragmente răsucite în tuburi sau jgheaburi cu grosimea 0,5-2 mm, lungimea diferită, de la 10 până la 20-25 cm. Suprafața externă cenușie-cafenie sau cenușie-închisă, aproape netedă sau cu fisuri longitudinale abia vizibile și cu lenticele albicioase, dispuse orizontal; la scoarța mai bătrână lenticelele au aspectul unor pete cenușii-deschise, ușor proeminente pe suprafața scoarței. La chiuretarea atentă a stratului superior al scoarței se observă straturile ei interne de culoare roșie-vișinie.

Suprafața internă a scoarței de culoare galbenă, lucioasă, fractura părții externe granuloasă, a celei interne fibroasă. La umectarea cu o soluție alcalină sau amoniac partea internă a scoarței se colorează în roșu (derivații antracenului).

Gust amărui, la mestecarea scoarței saliva se colorează în galben. Nu are miros.

Caractere microscopice: secţiunea transversală prin scoarţă *(fig. 95)* prezintă un suber dezvoltat (din 15-20 straturi de celule), de culoare roşie-închisă, după care urmează colenchimul tabular. Scoarţa primară este formată din celule ovale şi numeroase druze de oxalat de calciu. Se întâlnesc şi fibre mecanice cu pereţii celulari îngroşaţi şi nelignificaţi. Liberul foarte dezvoltat, împărţit în fascicule prin 1-2, mai rar 3, rânduri de raze medulare ondulate, prezintă pachete de fibre liberiene aşezate stratificat. În secţiune transversală fibrele sunt poligonale, cu membrane groase lignificate, dispuse în grupuri mari tangenţial alungite şi înconjurate de învelişul cristaligen. În parenchimul liberului druze de oxalat de calciu. Scoarţa bătrână conţine un număr mare de druze şi fibre liberiene, cea tânără – cu mult mai puţine.

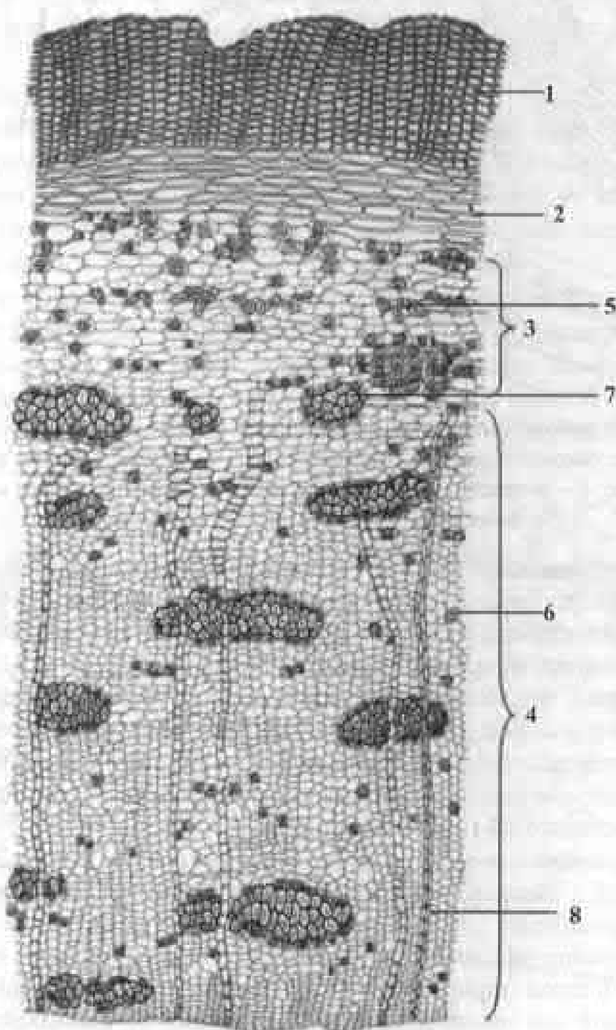


***Fig. 95.* Secţiune transversală prin scoarţa de cruşin (x120):** *1* – suber; *2* – colenchim; *3* – scoarţă primară; *4* – scoarţă secundară (liber); *5* – fibre mecanice ale scoarţei primare; *6* – druze de oxalat de calciu; *7* – grupe de fibre liberiene cu teacă cristaligenă; *8* – raze medulare

Pulberea are culoare galben-brună. La microscop *(fig. 96)* se văd fragmente de suber în formă de straturi plate de celule cu configurație poligonală; umplute cu un conținut roșu-închis; grupuri de fibre liberiene cu teci cristaligene; fragmente de parenchim, care conțin granule foarte mici de amidon și druze de oxalat de calciu. În parenchim se observă filamente de raze medulare. Se întâlnesc fragmente de fibre, numeroase druze și cristale prismatice de oxalat de calciu, granule de amidon.

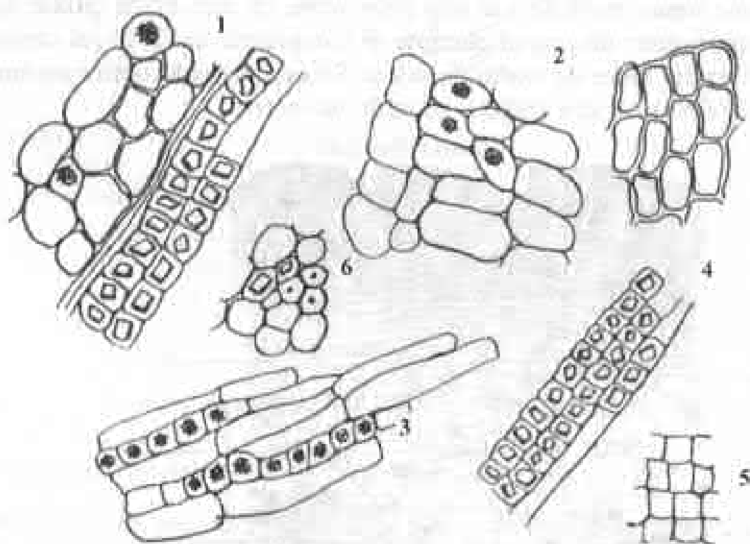


Fig. 96. **Elemente ale pulberii scoarței de crușin:** *1* – fragment al tecii cristaligene cu cristale prismatice și celule parenchimatice cu druze de oxalat de calciu; *2* – parenchim în secțiune transversală cu druze; *3* – parenchim liberian în secțiune longitudinală; *4* – teaca cristaligenă; *5* – suber; *6* – fragment al tecii cristaligene

Microscopia luminescentă (lumină ultravioletă). Secțiunea transversală prin scoarță fără lichid de includere. Scoarța are un aspect foarte caracteristic. Celulele suberului distincte, membranele albăstrii, conținutul roșu-închis, aproape negru. Din partea externă, suberul este înconjurat de un strat subțire cu luminescență de smarald. Stratul de colenchim cenușiu-verzui, grupele de fibre liberiene albastre-verzui. Parenchimul scoarței luminescează în portocaliu, portocaliu ca focul sau portocaliu-galben-intens. Deosebit de vie este luminescența straturilor scoarței mai bătrâne și razelor medulare. Elementele conducătoare ale liberului sunt cenușii-mate sau galben-brune. Straturile de lângă cambiu au luminescență verde-albăstruie.

Impurificări posibile: scoarță de mălin *Padus racemosa* (Lam.) Gilib; scoarța de arin – *Alnus incana* (L.) Moenen, *A. glutinosa* L. Gaerth.; scoarță de verigariu – *Rhamnus cathartica* L.; scoarța diferitor specii de salcie *Salix sp.*

Impurificările enumerate se deosebesc după culoarea suberului la exterior și, mai ales, la chiuretare; în cazul impurităților, la chiuretarea stratului superior al suberului se observă țesuturi cafenii sau verzui, și nu roșii ca la crușin. Se deosebesc foarte mult și după caracterul luminescenței: parenchimul de bază al scoarțelor enumerate are luminescență cenușie-închisă, galbenă-brună, verde-albăstruie, cenușie-roză, dar nu portocalie ca la scoarța de crușin. Majoritatea țesuturilor scoarței de verigariu se caracterizează prin luminescență portocalie-cafenie a conținutului celulelor; membranele lor sunt groase, brune-verzui. Impuritățile enumerate dau reacție pozitivă la substanțele tanante.

HYPERICI HERBA – părţi aeriene de sunătoare

Planta producătoare: ***Hypericum perforatum*** L. – sunătoare (pojarniţă)

Fam. **Hypericaceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din tulpini, lungimea de circa 30 cm, frunze, flori, parţial cu muguri florali şi fructe imature. Tulpinile, cu ramificaţii numai în partea superioară, sunt cilindrice, glabre, cu două coaste longitudinale, ramuri opuse. Frunze opuse, sesile, lungimea de circa 3,5 cm şi lăţimea de 1,4 cm, ovale sau oval-eliptice, bonte, cu margini întregi. Prin transparenţă prezintă punctuaţii translucide ce corespund pungilor secretoare care abundă în mezofilul frunzei. Flori hermafrodite, dispuse în cime corimbiforme. Caliciul din 5 sepale verzi lanceolate, corola – din 5 petale galbene-aurii, pe margini cu numeroase puncte brun-negricioase. Stamine numeroase, concrescute în trei fascicule. Fructul o capsulă septicidă, cu numeroase seminţe, mici, brune.

Miros slab, gust amărui-astringent.

Impurificări posibile: *Hypericum maculatum* Crantz. (syn. *H. quadrangulum* L.) tulpina tetramuchiată, cavă, frunzele ovale, mai mari; *H. hirsutum* – tulpina cilindrică, acoperită cu peri, sepalele cu cili glandulari (privită cu lupa); *H. elegans* Steph. – tulpina cu două muchii subţiri, longitudinale, sepale lanceolate, marginea alungit-zimţată, cu puncte negre.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 97)*. Epidermele superioară şi inferioară ale frunzei din celule cu contur sinuos şi îngroşare moniliformă pronunţată. Stomatele, prezente numai pe partea inferioară, sunt înconjurate de 3-4 celule. În mezofilul frunzei numeroase pungi secretorii, mari, rotunde sau ovale, de două tipuri: incolore, transparente şi colorate cu pigment brun-violet. Se observă pungi şi de-a lungul nervurilor, cu conţinut incolor sau galben-cenuşiu.

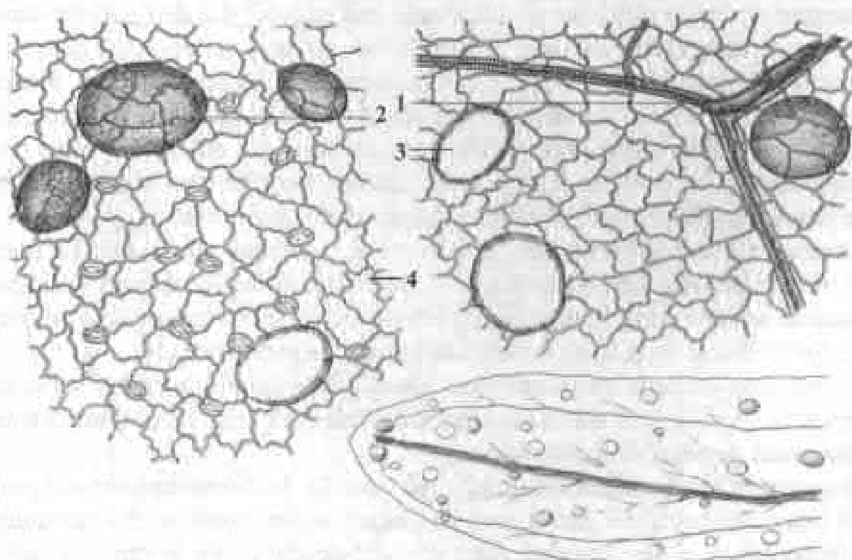


***Fig. 97.* Preparat superficial din frunza de sunătoare (x280).** *A* – epiderma inferioară; *B* – epiderma superioară; *C* – fragment de frunză examinat cu lupa. *1* – pungă pe nervură; *2* – pungă cu conţinut pigmentat; *3* – pungă cu conţinut incolor; *4* – îngroşări moniliforme ale pereţilor celulari

RHAMNI CATHARTICAE FRUCTUS – fructe de verigariu

Planta producătoare: ***Rhamnus cathartica*** L. – verigariu (paţachină, spinul cerbului, verigar)

Fam. **Rhamnaceae**

Caractere macroscopice: fruct drupă cu diametrul de 5-8 mm, negru-violaceu, lucitor; cu un vârf ascuţit ce reprezintă restul stilului, iar în partea opusă o cicatrice care corespunde receptaculului – locul fixării pedunculului. Fructele înmuiate au formă sferică. Mezocarpul galben-verzui conţine 3 (mai rar 2-4) seminţe cu lungimea de 5 mm. În secţiune seminţele sunt triunghiular-rotunde, ovate, cu partea dorsală convexă, cu vârf ascuţit cartilaginos. Nu se admite amestecarea lor cu fructe de cruşin, care pot fi recunoscute după prezenţa în fruct a 2 sâmburi de formă ovală, cu excrescenţă cartilaginoasă în formă de năsuc. Spre deosebire de fructele de verigariu, acestea au suprafaţa mată.

Miros slab, gust dulceag sau dulceag-amărui.

RHEI RADICES – rădăcini de revent

Planta producătoare: ***Rheum palmatum*** L. *var.* ***tanguticum*** Maxim. – revent

Fam. **Polygonaceae**

Caractere macroscopice: fragmente de rădăcini şi rizomi cu grosimea de 3 cm. Suberul cafeniu-închis, lângă rădăcini longitudinal, cu numeroase zbârcituri, la rizomi – transversal, de asemenea cu zbârcituri. Secţiunea transversală galbenă-brună sau cafeniebrună; fractura proaspă- tă – granuloasă, de culoare deschisă, cu striuri portocalii.

Miros caracteristic, gust amărui, astringent. La mestecare crepitează între dinţi (are druze foarte mari); saliva capătă culoarea galbenă.

Caractere microscopice: secţiune transversală prin rădăcină *(fig. 98)*. Suberul din câteva straturi de celule sub care se află stratul cafeniu-roşiatic de feloderm din celule mari, cu pereţi tangenţiali îngroşaţi. Parenchimul scoarţei şi lemnului conţine druze foarte mari (100-200 µm) de oxalat de calciu, caracteristice pentru revent. Razele medulare prezintă dilatări sub formă de pâlnie din 2-4 rânduri de celule mari, radial alungite, cu conţinut galben. Porţiunile mai bătrâne ale liberului cu cavităţi pline cu mucilagiu. Linia cambiului clară. În lemn vasele sunt dispuse câte unul sau în grupuri mici. Celulele parenchimului lemnos şi ale scoarţei umplute cu amidon.

Pulberea rădăcinii de revent este de culoare galbenă-portocalie. La microscop *(fig. 99)* fracturi de vase late, scalariforme şi reticulate, druze foarte mari şi fragmentele lor, granule de amidon, simple, rotunde, cu hilul punctat, şi compuse (2-5), cu diametrul 2-40 µm. Se întâlnesc fracturi de suber şi de celule ale parenchimului.

La încălzirea pulberii într-o eprubetă uscată, derivaţii antracenului sublimează şi se precipită pe pereţii reci sub forma unor cristale galbene, care, fiind tratate cu o soluţie alcoolică de bază, dau coloraţie roşie.

Microscopie luminescentă (lumină ultravioletă). Secţiune transversală prin rădăcină fără lichid de includere. Suber mat, de culoare cafenie-închisă. Parenchimul scoarţei şi al lemnului cu o luminescenţă clară albastră-deschisă. Pe alocuri, în scoarţă, se observă incluziuni portocalii-închise şi bulgări de mucilagiu albaştri-verzui. Linia cambiului clară, albastră-cenuşie. Membranele vaselor lemnului albastre-intens sau albastre-verzui, cavitatea întunecată. Pe acest fond se evidenţiază puternic raze medulare cu o luminescenţă portocalie-cafenie intensă (derivaţii antracenului). Luminescenţa

rădăcinilor, întunecate în fractură, se distinge clar. Totodată, se observă difuziunea conținutului portocaliu-cafeniu din razele medulare în țesuturile învecinate. Pe alocuri se pot vedea cristale aparte, aciculare, ale derivaților antracenului cu luminescență portocalie aprinsă.

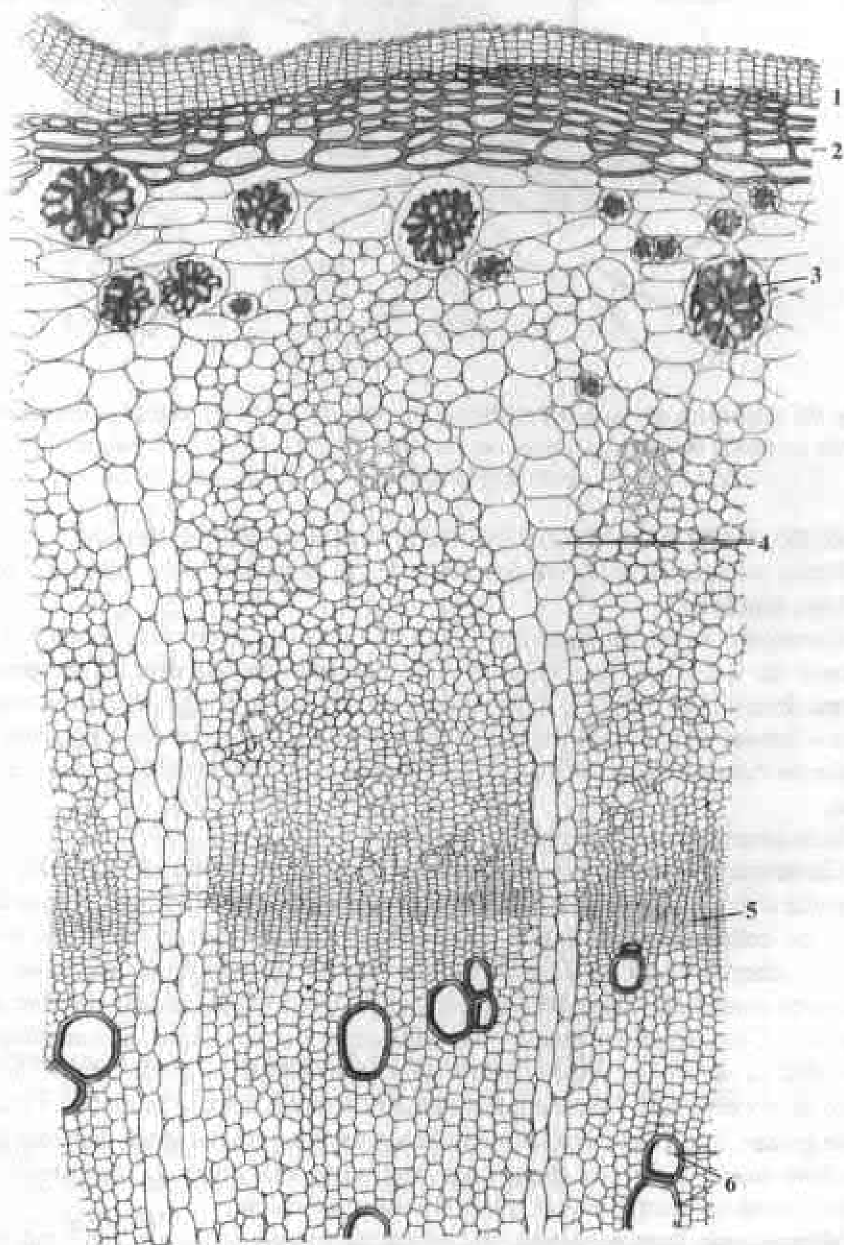


Fig. 98. **Secțiune transversală prin rădăcina de revent (x120):** 1 – suber; 2 – feloderm; 3 – druze de oxalat de calciu; 4 – raze medulare; 5 – cambiu; 6 – vase lemnoase

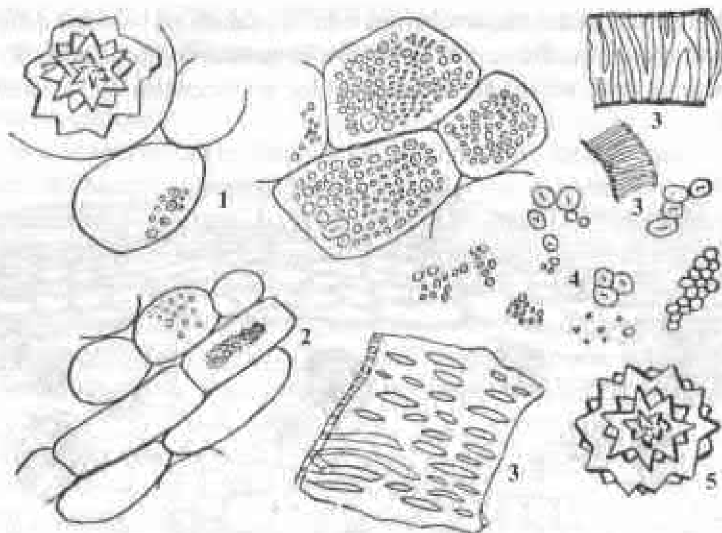


Fig. 99. **Elemente ale pulberii rădăcinii de revent (x280):** *1* – celule parenchimatice cu druze de oxalat de calciu şi granule de amidon; *2* – rază medulară cu parenchim; *3* – vase lemnoase; *4* – granule de amidon; *5* – druză de oxalat de calciu

RUBIAE RHIZOMATA ET RADICES – rizomi şi rădăcini de roibă

Planta producătoare: ***Rubia tinctorum*** L.; ***R. tictorum*** L. *var.* ***iberica*** – roibă

Fam. **Rubiaceae**

Caractere macroscopice: fragmente de rizomi şi rădăcini cu diametrul 4-5 mm, lungimea de 5-15 cm, acoperite cu suber cafeniu-închis, care se desprinde uşor. Fractura dreaptă. În rădăcini, după suber urmează scoarţa îngustă cafenie-roşiatică, în centru – lemnul deschis, galben sau roşiatic. Rizomii se disting după prezenţa canalului medular de culoare cafenie-roşiatică. La plantele mai mari canalul medular este parţial distrus.

Gust amar, miros foarte slab.

Caractere microscopice: secţiune transversală prin rădăcină *(fig. 100)*. Structura anatomică a rizomului şi rădăcinii sunt foarte asemănătoare. Suberul constă din câteva straturi de celule dreptunghiulare, cu membrane foarte subţiri. Straturile externe ale celulelor suberului sunt semidistruse şi se stratifică. Razele medulare nu se evidenţiază. Scoarţa constă din elemente cu pereţi subţiri, predomină celulele de liber dispuse în grupe mici. Celulele parenchimului cu rafide de oxalat de calciu. Linia cambiului îngustă. Lemnul cu un contur sinuos. Vasele lemnoase aşezate în grupuri mici. În cavitatea vaselor se observă tile. Celulele parenchimului lemnos, dispuse în rânduri radiale, membranele groase, lignificate. Partea centrală a rizomului este ocupată de canalul medular din celule mari, ovale, cu membrane îngroşate, străbătute de pori ovali. Celulele canalului medular conţin uneori rafide de oxalat de calciu.

Microscopie luminescentă. Pe secţiunea transversală prin rădăcină sau rizom uscat fără lichid de includere (lumină ultravioletă): suberul este mat, aproape negru. Scoarţa luminescenţă portocalie-roşiatică sau portocalie-aprinsă datorită prezenţei derivaţilor antracenului. Pereţii celulari ai traheelor şi traheidelor şi parenchimului lemnos albastri-verzui-aprins, conţinutul celulelor parenchimului lemnos – portocaliu-

gălbui sau portocaliu-aprins (derivații antracenului). Derivații antracenului în unele vase lemnoase, umplute cu tile, formează la uscare cristale cu o luminescență roșie-aprinsă (acidul ruberitrinic). Măduva în rizom are aceeași luminescență ca și scoarța. Țesuturile necrotizate și fragmentele de rădăcini cu fractură înnegrită la lumina ultra-violetă sunt mate, aproape negre.

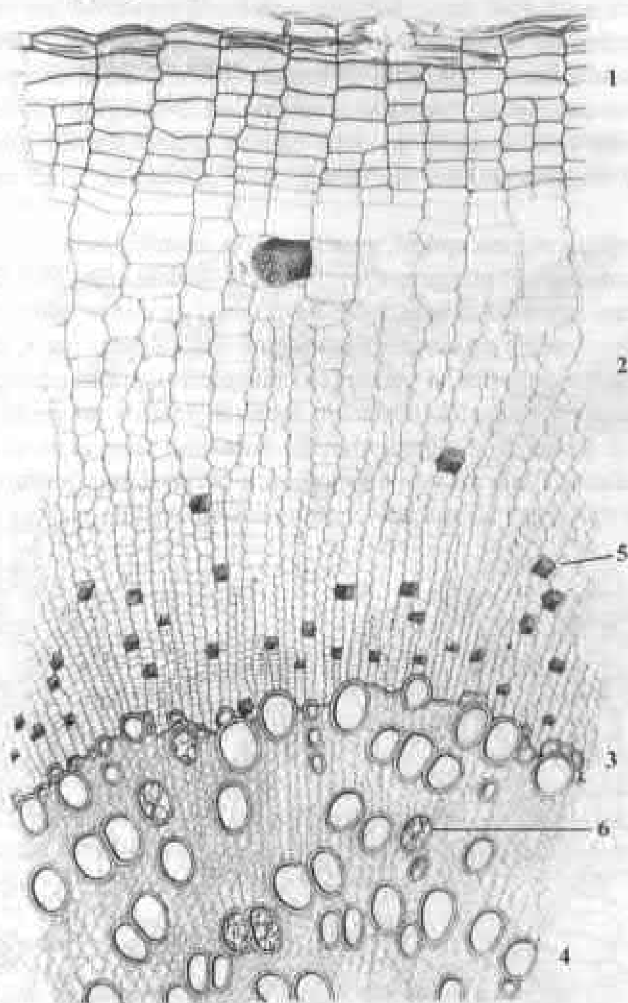


***Fig. 100.* Secțiune transversală prin rădăcina de roibă (x280):** *1* – suber; *2* – scoarță; *3* – cambiu; *4* – lemn; *5* – rafide de oxalat de calciu; *6* – vase lemnoase cu tile

RUMICIS RADICES – rădăcini de ștevie

Planta producătoare: ***Rumex confertus*** Willd – ștevie

Fam. **Polygonaceae**

Caractere macroscopice: fragmente de rizomi și rădăcini de diferite forme și dimensiuni. Rizomii lignificați, mai des răsuciți sau recurbați; rădăcinile cilindrice, drepte sau slab striate, de culoare brună; fractura fibroasă, galbenă.

Fără miros, gust astringent, amărui; la mestecare saliva se colorează în galben.

SENNAE FOLIA (CASSIAE FOLIA) – frunze de siminichie

Plante producătoare: ***Cassia angustifolia*** Vahl, ***C. acutifolia*** Del., ***C. obovata*** Hayn. – siminichie

Fam. **Fabaceae**

Caractere macroscopice: foliolele frunzelor sunt subțiri, fragile, alungit-lanceolate, cu pețiolul foarte scurt (1-2 mm), asimetrice la bază, cu vârful mai mult sau mai puțin acut, cu marginea întreagă. Nervurile principale și cele de ordinul doi ușor proeminente pe fața inferioară. Nervurile secundare pornesc de la cea principală sub un unghi ascuțit și se contopesc, formând arcuri paralele marginii foliolei. Foliolele verde-gri, cu o nuanță mai deschisă pe fața internă. Dimensiunile foliolelor la *C. angustifolia*: 2-6 cm lungime și 0,6-2 cm lățime; la *C. acutifolia*: 1-3,5 cm lungime și 0,4-1,2 cm lățime.

Miros caracteristic, abia perceptibil, gustul amărui, mucilaginos.

Caractere microscopice: preparat superficial din foliole *(fig. 101)*. Epiderma pe ambele fețe are aceeași structură și constă din celule mici cu contur poligonal. Prezintă numeroase stomate pe ambele epiderme, înconjurate de 2-3, mai rar 4, celule anexe. Pe ambele epiderme sunt și numeroși peri tectori unicelulari, puțin recurbați, verucoși, cu vârful ascuțit. Deseori perii cad, lăsând în locul fixării lor un pilier mic rotund, înconjurat de o rozetă de celule ale epidermei. În mezofilul frunzei se văd numeroase druze de oxalat de calciu. Toate nervurile foliolei (cu excepția micilor ramificații, care constau din traheide spiralate) au o teacă cristaligenă cu cristale prismatice de oxalat de calciu.

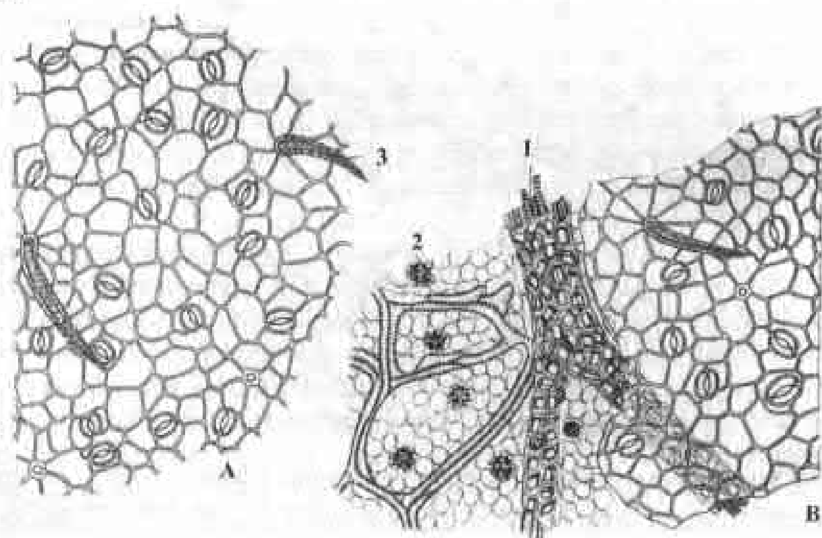


Fig. 101. **Preparat superficial din frunze de siminichie (x280):** A – epiderma superioară; B – epiderma inferioară. 1 – nervura cu teaca cristaligenă (cristale prismatice); 2 – druze de oxalat de calciu; 3 – peri unicelulari

Pulberea frunzei de siminichie este de culoare galben-verzuie. La microscop *(fig. 102)* se văd fragmente ale foliolei și fragmente separate ale epidermei și nervurilor. Deseori se observă fragmente ale foliolei în secțiune transversală. Pe imagine se vede bine că frunza de siminichie este izolaterală; țesutul palisadic se află pe ambele

părți ale frunzei. În partea centrală a mezofilului sunt dispuse în 2-3 rânduri celule ovale, cu spații intercelulare mari. Prin mezofil trec fascicule conducătoare colaterale, înconjurate dintr-o parte sau din ambele părți de fibre mecanice, la care aderă un strat de celule cristaligene. În pulbere se întâlnesc de asemenea peri tectori, druze și cristale prismatice de oxalat de calciu.

Microscopie luminescentă (lumină ultravioletă sau albastră-violetă).

Pulberea din frunze se studiază în lipsa lichidului de includere. Cel mai mare interes îl prezintă fragmentele frunzei în secțiune transversală, unde se vede clar localizarea derivaților antracenului; în partea centrală a mezofilului și în jurul fasciculelor conducătoare aceste celule au o luminescență galbenă sau portocalie-roșiatică intensivă. Conținutul celulelor epidermei și cuticula în lumina ultravioletă au o luminescență albastră aprinsă.

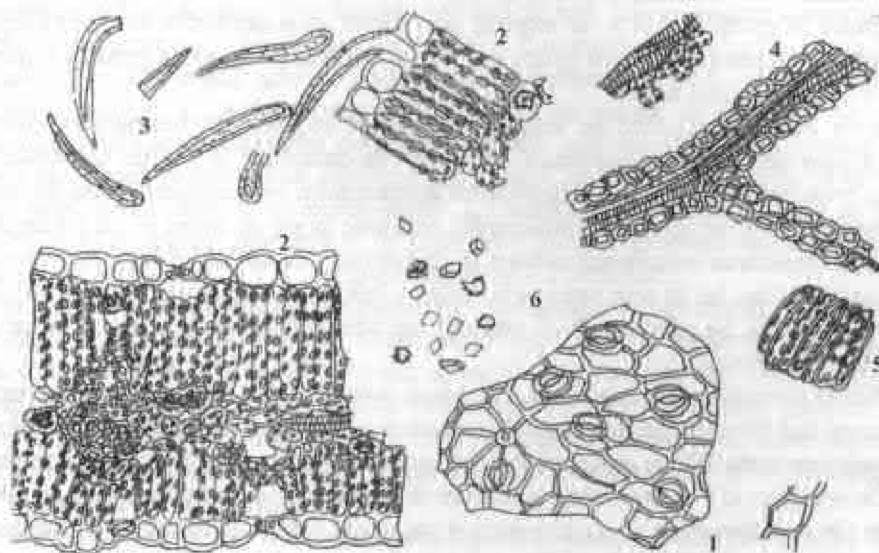


***Fig. 102.* Elemente ale pulberii frunzei de siminichie (x280):**
1 – fragmente de epidermă; *2* – fragmente de frunze în secțiune transversală; *3* – peri;
4 – fragmente de nervuri; *5* – fragmente de mezofil; *6* – cristale de oxalat de calciu

3.13.2. Analiza chimică

Proprietăți fizico-chimice. Derivații antracenului sunt substanțe cristaline de culoare galbenă, portocalie sau roșie. Agliconii liberi sunt ușor solubili în eter etilic, cloroform, benzen și alți solvenți organici; în apă nu se dizolvă, dar sunt ușor solubili în soluție apoasă de baze datorită formării fenolaților.

În formă de heterozide, derivații antracenului sunt ușor solubili în apă, mai ușor solubili în baze, mai slab în etanol și metanol; insolubili în solvenți organici – benzen, eter etilic, cloroform etc.

La încălzirea până la 210 °C derivații antracenului se sublimează.

Majoritatea derivaților antracenului sunt fluorescenți la excitarea cu lumina UV și albastră-violetă. Caracterul fluorescenței depinde de gradul de oxidare a nucleului principal, de numărul și de poziția substituenților: antrachinonele se caracterizează, de

regulă, prin fluorescentă portocalie, roz, roșie și roșie-aprins; antronele și antranolii – galbenă albastră, violetă.

Izolare. Pentru obținerea antraheterozidelor, produsul vegetal se extrage cu apă, alcooli (etilic, metilic) sau cu amestec hidroalcoolic. Agliconii mai bine se dizolvă în solvenți organici, dar solubilitatea lor e selectivă. Pentru obținerea agliconilor, heterozidele din materialul vegetal se supun hidrolizei, încălzind cu acid sau enzimatic, apoi agliconii liberi se extrag cu eter etilic, benzen și cloroform. Antrachinonele, care conțin în calitate de substituent grupa carboxilă, se dizolvă în soluții apoase de carbonați și hidrocarbonați ai metalelor alcaline și hidroxilii lor cu formarea sărurilor. Antrachinonele cu hidroxilul în poziția β nu reacționează cu hidrocarbonații, iar cu soluțiile apoase de carbonați și hidroxizi ai metalelor alcaline dau fenolați. Substanțele, care conțin α-hidroxil, formează fenolați numai în soluții de baze. Diferența proprietăților oxigrupelor în poziția α- și β- se explică prin faptul că α-hidroxilii formează legătura hidrogenică intramoleculară cu grupa carbonică vecină, și de aceea posedă o proprietate de reacționare mai mică

Toate metodele clasice de separare a acestor compuși se bazează pe diferența proprietăților derivaților antracenului în funcție de caracterul și poziția substituenților. Metoda principală de separare a derivaților antracenului este cromatografia. În calitate de sorbent efectiv se folosește poliamida; rezultate bune se obțin și cu silicagel. Ca solvenți la separarea antraheterozidelor în majoritatea cazurilor se folosesc amestecurile hidroalcoolice, iar la separarea agliconilor – benzenul, toluenul, cloroformul.

Identificare. Se efectuează cu ajutorul metodelor chimice și fizice, care se completează unele pe altele.

Dintre metodele fizice cea mai completă informație o furnizează cele spectrale, care permit stabilirea grupei de compuși, precum și prezența, caracterul substituenților.

Spectroscopia UV se aplică pe larg în cercetările structurale ale derivaților antracenului. În regiunea UV acești compuși au câteva maxime de absorbție mai sus de 200 nm. Fiecare tip de substituire se caracterizează printr-un număr determinat de particularități spectrale, care facilitează stabilirea structurii compușilor noi din această grupă.

Spectroscopia IR are cea mai largă aplicare la studierea structurii derivaților antracenului, deoarece spectrele IR ale acestor compuși sunt specifice și pot fi folosite pentru identificare. Prezența inelelor aromatice în antrachinonă determină apariția fâșiei intensive în regiunea 1578-1596 cm^{-1}.

Derivații antrachinonei, care n-au α-hidroxili, formează o fâșie bine vizibilă în regiunea 1678-1653 cm^{-1}, determinată de grupele carbonile ale inelului chinoidic. α-hidroxilii se caracterizează printr-o fâșie lată, cu centrul 2900 cm^{-1}, ce se explică prin formarea legăturii xidroxilice intramoleculare între α-hidroxilii și carbonilii chinoidici. Grupele beta-hidroxile pot fi determinate după apariția fâșiei în regiunea 3400-3150 cm^{-1}, ceea ce e caracteristic pentru oxigrupele capabile să formeze legături hidrogenice intramoleculare. La derivații antronei grupa carbonilă liberă a inelului chinoidic absoarbe în regiunea 1654 cm^{-1}. Prin urmare, la studierea derivaților antracenului cu ajutorul spectroscopiei infraroșii se folosește frecvența absorbției grupelor separate și substituenților compușilor.

Spectroscopia RMP se aplică și la studierea structurii derivaților antracenului. Caracterul spectrului RMP se determină prin numărul și poziția protonilor aromatici, de asemenea prin poziția și structura substituenților cu conținut de hidrogen.

Reacții calitative

1. Reacția cu bază (reacția Borntrager): 0,2 g de produs vegetal mărunțit se fierb 2 minute cu 5 ml NaOH 10 %. După răcire, amestecul se dizolvă cu 5 ml de apă și se filtrează. 3 ml de filtrat se toarnă în eprubetă, se adaugă 3 ml HCl 10 % și 10 ml benzen. Se amestecă foarte atent și după stratificarea lichidului stratul benzenic se scurge, filtrându-l printr-un tampon mic de vată. La filtrat se adaugă 3 ml soluție de amoniac 10 %.

La prezența derivaților antracenului, stratul amoniacal capătă o colorație roșie-vișinie (1,8-dioxiantrachinone), purpurie (1,4-dioxiantrachinone) sau violetă (1,2-dioxiantrachinone).

Esența reacției constă în următoarele: la fierberea produsului vegetal cu bază are loc hidroliza antraheterozidelor, cu formarea agronilor liberi. Concomitent, derivații antronei și antranolului se oxidează până la antrachinone. Oxiantrachinonele formate pe baza hidroxililor fenolici dau fenolați solubili în apă. La acidularea extractului bazic apos, disocierea hidroxililor este deprimată și compușii devin lipofili, iar la agitare cu benzen trec din stratul apos în benzen: stratul benzenic capătă culoarea galbenă a oxiantrachinonelor. La agitarea stratului benzenic cu soluție de amoniac din nou se formează fenolații antrachinonelor care trec în stratul amoniacal. Fenolații oxiantrachinonelor au culoare roșie-vișinie, purpurie sau violetă, în funcție de poziția oxigrupelor.

2. Sublimarea derivaților antracenului. La fundul unei eprubete uscate se adaugă 0,2 g de produs vegetal mărunțit și se încălzește, ținând eprubeta aproape orizontal. Temperatura sublimării 210 °C, timpul sublimării – 10 minute.

Sublimatul se condensează pe părțile reci ale eprubetei sub formă de picături galbene sau cristale aciforme galbene. După răcirea eprubetei, la sublimat se adaugă o picătură soluție NaOH 5 % în alcool etilic; apare o colorație roșie sau violetă, în funcție de componența derivaților antracenului (formarea fenolaților). Esența reacției: antraheterozidele se găsesc în materialul vegetal, la temperatură înaltă se descompun, formând agliconi liberi; concomitent derivații antronei și antranolului se oxidează până la antrachinone care se sublimează.

3. Reacția Schonteten este caracteristică pentru formele reduse (antranoli). Soluția extractivă apoasă, tratată cu o soluție concentrată de borax, prezintă fluorescență verde, care crește la diluare cu apă.

Tehnica de lucru: 0,05 g aloe se agită cu 5 ml apă fierbinte și 0,3 g talc și se filtrează. Soluția se tratează cu 5 ml soluție saturată de borax; apare o fluorescență verde, care se intensifică la diluare cu apă.

La analiza produsului vegetal, care conține derivații antracenului, se folosește *cromatografia* pe hârtie și în straturi subțiri de sorbent.

Pentru studierea componenței antraheterozidelor se pregătesc extracte apoase; pentru analiza componenței agliconilor, produsul se extrage cu benzen, alcool etilic și metilic, care la încălzire, mai mult sau mai puțin, extrag atât derivații antracenului liberi, cât și formele lor heterozidice.

0,3 g de produs vegetal mărunțit se încălzesc 5 minute cu 3 ml de alcool etilic, până la fierbere slabă. După răcire se filtrează. 0,1 ml de filtrat se aplică pe linia de start și se cromatografiază în sistemul etilacetat–alcool metilic–apă (100:17:13). Timpul cromatografierii 30-40 minute.

Cromatograma se usucă la aer, se tratează cu NaOH 5 % în alcool etilic și se examinează la lumina de zi și UV până și după prelucrare. Concomitent se aplică substanța de referință alături de extractul de studiu. După mărimea Rf, caracterul colorației și

fluorescenței petelor, se identifică derivații antracenului produsului vegetal de analizat (*fig. 103-108*; tabelul 9 – cu explicații).

La studierea antraheterozidelor, cromatografierea se efectuează în sistemul acetat de etil–acid formic–apă (10:2:3), iar a derivaților antracenului liberi în toluen (cromatografia pe hârtie).

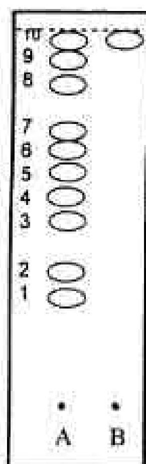


***Fig. 103.* Cromatograma derivaților antracenului din ștevie**: A – extract etanolic din rădăcină de ștevie; B – standard de frangulaemodină



***Fig. 104.* Cromatograma derivaților antracenului din revent:** A – extract etanolic din rizomi și rădăcini de revent; B – standard de frangulaemodină

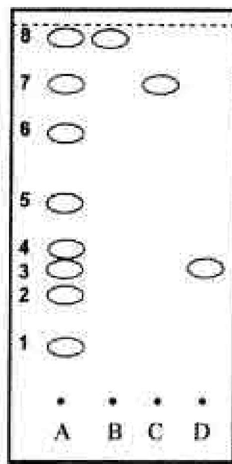


***Fig. 105.* Cromatograma derivaților antracenului din crușin:** A – extract etanolic din scoarță de crușin; B – frangulaemodină; C – frangulină; D – glucofrangulină

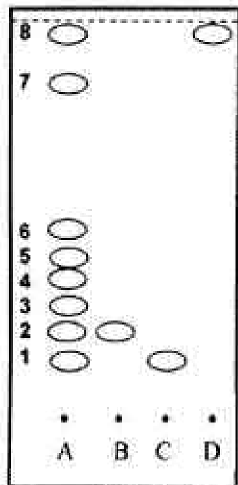


***Fig. 106.* Cromatograma derivaților antracenului din verigar:** A – extract etanolic din fructe de verigar; B – frangulaemodină; C – frangulină

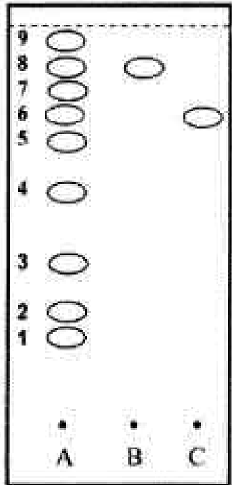


***Fig. 107.* Cromatograma derivaților antracenului din roibă:** A – extract etanolic din rizomi și rădăcini de roibă; B – acid rubiritrinic; C – lucidin-primverozidă; D – alizarină

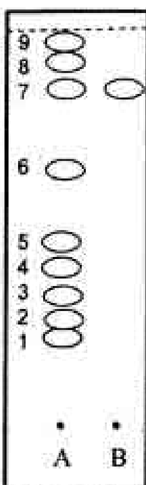


***Fig. 108.* Cromatograma derivaților antracenului din siminichie:** A – extract etanolic din frunze de siminichie; B – reină

Tabelul 9

Rezultatele analizei cromatogramelor derivaților antacenului

Denumirea produsului vegetal	Numărul spoturilor	Cromatograma după developarea cu KOH		Denumirea substanței
		culoarea spoturilor în lumina vizibilă	fluorescența în lumina UV	
Rădăcini de ștevie	1	incoloră	verde-deschisă	
	2	–	violetă-deschisă	
	3	–	violetă-aprinsă	
	4	galbenă-deschisă	portocalie-deschisă	
	5	roșie	roșie-portocalie	
	6	galbenă-deschisă	albastră-deschisă	
	7	galbenă-deschisă	violetă-aprinsă	
	8	galbenă-închisă	cafenie-închisă	
	9	cafenie-cenușie	cenușie-închisă	
	10	roșie	roșie-violetă	frangulaemodina
Rădăcini de revent	1	incoloră	portocalie-deschisă	
	2	–	–	
	3	galbenă-deschisă	slab violet-întunecată	
	4	–	verde-deschisă	
	5	roșie-deschisă	violetă	
	6	roșie	roșie-portocalie	antraheterozide
	7	roșie-deschisă	roșie-violetă	
	8	galbenă-deschisă	portocalie-deschisă	
	9	galbenă-închisă	cafenie-închisă	
	10	roșie	roșie-violetă	frangulaemodina
Scoarță de crușin	1	trandafirie	roșie-portocalie	
	2	cenușie ușor	verde-deschis	
	3	roșie	portocalie-aprins	glucofrangulina
	4	–	roșie-portocalie	
	5	incoloră	verde-deschis	
	6	trandafirie	trandafirie	
	7	portocalie	roșie-portocalie	frangulina
	8	roșie	roșie-violetă	frangulaemodina
Fructe de verigariu	1	galbenă-deschis	galbenă-închis	
	2	–	–	
	3	incoloră	verde-deschis	
	4	galbenă-deschisă	roșie	
	5	–	trandafirie	
	6	portocalie-deschisă	roșie-portocalie	frangulina
	7	galbenă-deschisă	galbenă	
	8	roșie	roșie-violetă	frangulaemodina
	9	verde-deschisă	trandafirie	clorofila
Rădăcini de roibă	1	portocalie	portocalie	lucidinprimverozida
	2	roșie	roșie-aprinsă	acid rubiritrinic
	3	galbenă-deschisă	portocalie-deschisă	
	4	–	–	
	5	incoloră	trandafirie-deschisă	
	6	–	–	
	7	–	violetă-deschisă	
	8	violetă purpurie	cafenie-închisă	alizarina
Frunze de siminichie	1	incoloră	violetă	
	2	galbenă-deschisă	verde-galbenă	
	3	galbenă-aprinsă	–	
	4	portocalie-deschisă	roșie	
	5	portocalie foarte deschisă	trandafirie	
	6	incoloră	albastră	
	7	roșie-violetă-deschisă	violetă-roșie	reina
	8	cenușie-verzuie	galbenă	
	9	verde	roșie	clorofila

Identificarea unor derivaţi antracenici din produse vegetale prin CSS

Soluţia de analizat: 0,5 g produs vegetal pulverizat se extrag cu 5 ml metanol, 5 minute, pe baia de apă la reflux; se filtrează.

Soluţii etalon: soluţii metanolice 0,1% de glucofrangulină A şi B, şi frangulină A şi B.

Faza staţionară: silicagel G.

Faza mobilă: acetat de etil:metanol:apă (100:13,5:10).

Revelare: pulverizare cu soluţie etanolică de KOH 5 %.

Rezultate:

- glucofrangulina A (Rf = 0,20); glucofrangulina B (Rf = 0,30); frangulină A (Rf = 0,75); frangulină B (Rf = 0,80) – spoturi colorate în roşu-brun.
- în UV (365 nm) – compuşii separaţi prezintă fluorescenţă roşie portocalie.

Identificarea unor heterozide antracenice prin cromatografie pe hârtie

Soluţia de analizat: 0,5 g produs vegetal pulverizat se extrag cu 5 ml metanol, 5 minute, pe baia de apă, la reflux; se filtrează.

Soluţii etalon: soluţii metanolice 0,1 % de glucofrangulină A şi B, şi frangulină A şi B.

Faza staţionară: hârtie *Whatman*, în prealabil umectată cu soluţie de carbonat de sodiu 5 %.

Faza mobilă: alcool etilic 78 % (vol.).

Revelare: pulverizare cu soluţie etanolică de KOH 5 %.

Rezultate: la lumina zilei, glucofrangulinele separate cromatografic se colorează în galben-brun, iar frangulinele în roz-roşu.

Identificarea agliconilor se realizează după hidroliza în mediu acid, la cald, a heterozidelor antracenice.

Soluţia de analizat: 0,5 g produs vegetal pulverizat se tratează cu 25 ml HCl 7,5 %, la reflux, 15 minute. După răcire, soluţia se agită cu 20 ml eter etilic într-o pâlnie de separare; faza eterică se concentrează până la 1 ml.

Soluţii etalon: soluţie eterică 0,1 % de frangulaemodină şi reină.

Faza staţionară: hârtie *Whatman*, în prealabil umectată cu soluţie de carbonat de sodiu 5 %.

Faza mobilă: alcool etilic 78 %.

Revelare: pulverizare cu soluţie etanolică de KOH 5 %.

Rezultate: în lumina zilei, frangulaemodina şi reina se colorează în roşu.

Determinarea cantitativă

Majoritatea metodelor de determinare cantitativă a derivaţilor antracenului prevăd determinarea totalului oxiantrachinonelor libere după hidroliza în prealabil a antraheterozidelor.

În prezent se foloseşte pe larg metoda colorimetrică, propusă de *Autergof*, în diferite modificări, pentru dozarea totalului derivaţilor antracenici (liberi şi legaţi în formă de heterozide).

0,05 g (probă exactă) de pulbere de produs vegetal se introduc într-un balon cu fund rotund de 100 ml care se uneşte cu refrigerentul ascendent. Conţinutul balonului se supune hidrolizei prin fierbere, 15 minute, cu 7,5 ml de acid acetic glacial (la studierea scoarţei de cruşin, rădăcinii de revent) sau cu 7,5 ml de acid acetic glacial şi 1 ml de HCl concentrat (la studierea frunzelor de siminichie şi rădăcini de roibă). În

timpul încălzirii, balonul se agită ușor, pentru a nu admite lipirea de fund a produsului vegetal. După răcire, în balon, prin refrigerent, se adaugă 30 ml de cloroform și se fierbe 15 minute la baia de apă pentru a extrage derivații liberi ai antracenului. După răcire (balonul împreună cu refrigerentul se ia de pe baia de apă), extractul cloroformic se filtrează prin vată în pâlnia de separare de 300 ml. Balonul se spală de 2 ori cu cloroform (câte 10 ml), filtrând prin aceeași vată în pâlnia de separare; vata se spală de 2 ori cu cloroform (câte 5 ml).

La extracția cloroformică, în pâlnia de separare se adaugă 40 ml de apă și, agitând puțin pâlnia, se amestecă straturile lichidului, pentru a spăla surplusul de acid. După stratificarea deplină, stratul de jos de cloroform se trece într-un balon conic de 250 ml, iar stratul apos se varsă. Din balon extractul cloroformic se trece din nou în pâlnia de separare și se adaugă soluție alcalin-amoniacală (NaOH 5 %, care conține amoniac 2 %), spălând în prealabil cu ea balonul. Agitând pâlnia de separare sub formă de cifra „8" amestecăm straturile lichidului pentru a extrage cu soluție alcalin-amoniacală derivații antracenului din cloroform. Pâlnia de separare se lasă 5 minute; după stratificarea lichidului, stratul de jos, cloroformic, se toarnă în balonul conic; stratul străveziu alcalino-apos de culoare roșie sau violetă se toarnă într-un balon gradat de 250 ml. Stratul cloroformic se trece din nou în pâlnia de separare, se adaugă 20 ml de soluție alcalin-amoniacală, clătind în prealabil cu ea balonul.

Derivații antracenului se extrag din nou, până când stratul alcalino-apos se va colora. La extractele alcalino-apoase, reunite în balonul cotat, se adaugă soluție alcalino-amoniacală până la nivelul marcat și se amestecă. 25 ml din soluția colorată obținută se trec într-un balon cu fund rotund, care se unește cu refrigerentul ascendent și se încălzește 15 minute la baia de apă. După răcire se măsoară densitatea optică a soluției la fotoelectrocolorimetru cu filtrul de lumină verde (λ=525 nm), în cuva cu grosimea stratului optic de 10 mm (punctul zero se stabilește după apa distilată). La apariția unei colorații intense, înainte de colorimetrie, soluția se diluează cu soluție alcalino-amoniacală.

Concentrația derivaților antracenului în soluția de analizat, exprimată în istizină, se determină după graficul de calibrare, construit după clorură de cobalt ($CoCl_2 \times 6H_2O$). Pentru aceasta, se pregătesc soluții de clorură de cobalt de la 0,2 până la 3 % (10-12 soluții cu concentrația uniform mărită) și se măsoară densitățile optice ale acestora. Pe axa ordonatelor se depune mărimea densității optice, iar pe abscisă – concentrația derivaților antracenului în miligrame la 100 ml, reieșind din faptul că clorura de cobalt de 1 % după densitatea optică corespunde la 0,36 mg de istizină în 100 ml de soluție alcalino-amoniacală. Pregătirea soluțiilor-etalon și determinarea densității lor optice se efectuează de cel puțin 3 ori.

Conținutul procentual (x) al derivaților antracenului, în recalcul la produsul vegetal absolut, se calculează după formula:

$$x = \frac{a \times V \times K}{m \times 10 \times (100 - w)},$$

în care: *a* – concentrația derivaților antracenului în mg la 100 ml, determinată după graficul de calibrare; *V* – volumul inițial al extracției alcaline, ml; *m* – masa probei de produs vegetal g; *w* – pierderea din masa produsului vegetal la uscare, %; *K* – coeficientul de diluție al soluției înainte de colorimetrie

Dozarea heterozidelor antracenice. 0,5 g (probă exactă) de produs vegetal mărunţit se trece într-un balon cotat de 150 ml, se toarnă 100 ml de apă, se agită 10 minute şi se încălzesc 15 minute cu refrigerent ascendent pe baia de apă clocotindă, agitând periodic balonul. După răcire sub un jet de apă, amestecul se agită, apoi se lasă 10 minute să se limpezească şi se filtrează prin filtru de hârtie pliat. 25 ml din extractul obţinut se trec într-un balon cotat de 100 ml, se adaugă 2,5 ml de H_2SO_4 de 50 %. Amestecul se încălzeşte la baia de apă fierbândă, agitând periodic, timp de 30 minute. După răcire soluţia se trece în pâlnia de separare cu capacitatea de 300 ml, iar balonul se spală cu 10 ml de apă şi 60 ml de cloroform. Apele de spălare şi cloroformul se unesc cu extractul de bază în pâlnia de separare şi se agită timp de 5 minute. După limpezire, stratul cloroformic se separă, iar extractul se agită cu o nouă porţie (30 ml) de cloroform. La amestecul de extracte cloroformice se adaugă 50 ml soluţie alcalino-amoniacală şi se agită 5 minute.

După limpezire, stratul apos străveziu se toarnă într-un balon cotat de 100 ml, se adaugă soluţie alcalino-amoniacală, până la cotă şi se amestecă. 25 ml din soluţia obţinută se trec într-un balon conic cu refrigerent ascendent şi se încălzesc 15 minute la baia fierbândă. După răcire lichidul se trece cantitativ într-un balon cotat de 50 ml, se adaugă soluţie alcalino-amoniacală până la cotă.

Densitatea optică a soluţiei se măsoară cu ajutorul spectrofotometrului la λ=525 nm în cuva cu grosimea stratului de 10 mm, folosind în calitate de soluţie de comparaţie soluţia alcalino-amoniacală. Concentraţia derivaţilor antracenului în soluţie, exprimată în acid crizofanic, se determină după graficul de calibrare, construit după soluţia clorură de cobalt. Conţinutul procentual al derivaţilor antracenului (în recalcul la artraheterozide) x se calculează după formula:

$$x = \frac{a \times 100 \times 100 \times 50 \times 100 \times 100 \times 1{,}59}{1000 \times 1000 \times m \times 25 \times 25(100 - w)} = \frac{a \times 81{,}59}{m(100 - w)},$$

în care: a – concentraţia derivaţilor antracenului soluţiei de analizat, determinată după graficul de calibrare, mg/l; m – masa probei de produs vegetal, g; w – pierderea din masa produsului la uscare, %; *1,59* – raportul masei medii a antraheterozidelor faţă de masa medie a agliconilor.

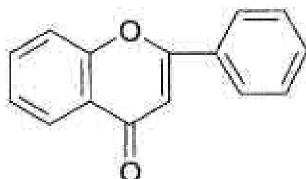
Pentru determinarea compuşilor individuali ai derivaţilor antracenului se aplică metode cromato-spectrofotometrice. Din materialul vegetal derivaţii antracenului se extrag sub formă de heterozide sau agliconi liberi şi se despart cu ajutorul cromatografiei pe hârtie sau în straturi subţiri de silicagel. Pentru separarea derivaţilor antracenului, extraşi cu alcool metilic (antraheterozide şi agliconi liberi), este propusă metoda cromatografică în straturi subţiri de silicagel în sistemul de solvenţi benzen–alcool metilic (4:1).

Spoturile derivaţilor antracenului pe cromatogramă se marchează la lumina UV şi fiecare se trece pe filtru de sticlă numărul 4. Filtrul se spală cu NaOH 0,15 N, cantitativ se trec în baloane cotate cu capacitatea de 50 ml şi volumul se aduce cu NaOH 0,5 N până la cotă. Peste 20 minute se determină densitatea optică a soluţiilor după maximumul de absorbţie în regiunea UV.

3.14. Produse vegetale cu conținut de flavonoide

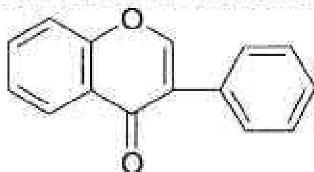
Definiție

Flavonoidele reprezintă o grupă numeroasă de compuși naturali, biologic activi, derivați ai benzo-γ-pironei, la baza cărora stă scheletul fenilpropanic din C_6-C_3-C_6 unități carbonice:



fenil-benzo-λ-pironă (flavonă)

Compușii naturali care au la bază izoflavona sunt mult mai puțin numeroși.



izoflavonă

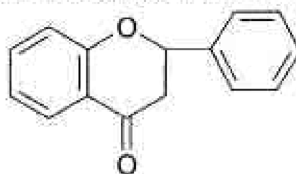
Flavonoidele au preluat denumirea de la cuvântul latin *flavus* – galben, fiindcă primele flavonoide extrase din plante aveau culoarea galbenă.

Clasificare

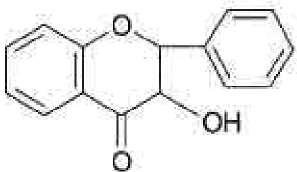
În funcție de gradul de oxidare și hidroxilare a scheletului C_6–C_3–C_6, flavonoidele se împart în: flavonoli, flavonone, flavanonoli, antociani, calcone, catechine, aurone etc.



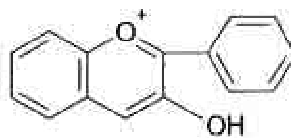
flavonoli



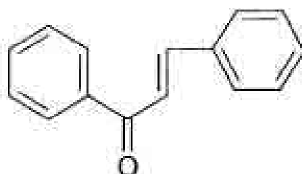
flavanone



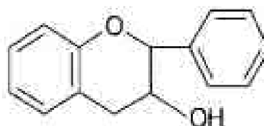
flavanonoli



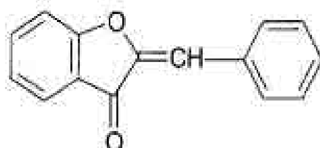
antociani



calcone



catechine



aurone

În plante, flavonoidele se găsesc atât în stare liberă, cât și sub formă de heterozide. În prezent toate heterozidele flavonoidice cunoscute se împart în 3 grupe.

Prima grupă este reprezentată de O-heterozide în care partea glucidică este unită cu agliconul de legătura semiacetală printr-un atom de oxigen. Heterozidele, în funcție de numărul de zaharuri, poziția și ordinea unirii, se împart în monozide, biozide, diheterozide. *Monozidele* fac parte din cei mai simpli compuși; *biozidele* cu unul și același complex de zaharuri pot să se deosebească prin succesiunea și ordinea unirii zaharurilor, mărimea ciclurilor oxide, configurația legăturilor heterozidice. De exemplu, este cunoscută grupa ramno-heterozidelor, la care ramnoza este legată cu glucoza prin atomii de carbon 2,4 sau 6. Biozidele trec în *triozide* și *oligozide*, la care zaharurile se pot combina în catene drepte sau ramificate. Zaharurile pot fi unite și la doi atomi de carbon (diheterozide).

A doua grupă este reprezentată de C-heterozide sau glicoflavonoide, care pot fi divizate în C-monoheterozide, C-diheterozide, C-O-diheterozide, C-O-biozide.

Din grupa a treia fac parte așa-numiții compuși compleeși, heterozidele acilare, care în funcție de poziția substituentului acilat se împart în heterozidele tipului despinoidic și heterozide cu legătura esterică în substituenții zaharurilor. În despinoide agliconii sunt legați cu acizii aromatici, dar sunt cunoscuți și eteri compuși cu acizi alifatici.

Dintre acizii eliminați din heterozidele complexe au fost identificați acizii benzenic, p-hidroxibenzenic, protocatehic, p-hidroxicinamic, cofeic, ferulic, sinapic, acetic, propionic etc.

3.14.1. Caractere macro- și microscopice

ALCHEMILLAE HERBA – părți aeriane de crețișoară
Planta producătoare: ***Alchemilla vulgaris*** L. – crețișoară
Fam. **Rosaceae**

Caractere macroscopice: tulpini glabre sau pubescente la bază; frunze alterne, aproape circulare, palmat-lobate, cu marginile lobilor fin dințate, acoperite cu peri tectori; florile mici, pentamere galben-verzui.

Miros slab aromat.

ARONIAE MELANOCARPAE FRUCTUS – fructe de aronie
Planta producătoare: ***Aronia melanocarpa*** (Michx.) Elliot. – aronie
Fam. **Rosaceae**

Caractere macroscopice: fructele de tip poamă, negre, zbârcite, după înmuiere ovale sau oval-sferice, uneori aproape sferice, la vârf bonte, cu diametrul de 8-10 (13,5) mm. Suprafața fructului mată, epicarpul tare, miezul cărnos, brun, la înmuiere roșu-violet, foarte colorant. Semințele, în număr de 4-8, sunt mici, cu lungimea de aproximativ 2 mm (unele nedezvoltate), alungit-ovale, convexe, puțin zbârcite, culoarea brună sau brună-roșiatică.

Gust acriu dulceag, ușor astringent.

ASTRAGALI DASYANTHI HERBA – părţi aeriene de coşaci

Planta producătoare: ***Astragalus dasyanthus*** Pall. – coşaci

Fam. **Fabaceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din lăstari terminali nelignificaţi ai plantei cu lungimea de 20 cm, cu frunze şi flori. Tulpinile cu coaste, grosimea de circa 3 mm, tubuloase, de culoare brună-verzuie sau albă-cenuşie. Frunzele imparipenat-compuse, lungimea 12-20 cm, peţiolate, cu stipele triunghiular-lanceolat-alungite. Foliolele, în număr de 12-14 (17), perechi, alungit-ovale sau lanceolate, cu lungimea de 15 mm, lăţimea de 6 mm, culoarea verde-cenuşie. Toate părţile plantei sunt acoperite cu peri lungi, albi sau roşcaţi. Florile grupate câte 10-20 în raceme glandulare pilos-lânoase. Caliciul campanulat, cu 5 dinţi liniari ascuţiţi. Corola galbenă, papilionată. Androcelul din 10 stamine (9 concrescute şi 1 liberă). Fructul o păstaie ovală cu lungimea de 10-11 mm, scorţoasă, cu rostru de culoare brun-cenuşie. Seminţele triunghiulare, plate, galbene-verzui.

Miros slab, gust dulceag.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 109)*. Celulele epidermei superioare au pereţii laterali sinuoşi. Stomatele prezente, pe ambele feţe ale frunzei, sunt înconjurate de 2-4 celule ale epidermei. Pe toata suprafaţa frunzei sunt numeroşi peri tectori (2-3 celule), cu pereţii groşi, îndreptaţi înspre partea superioară a frunzei. Celulele bazale ale perilor (1-2) sunt scurte, fixate de o celulă rotundă, în jurul căreia celulele epidermei formează o rozetă; celula terminală foarte lungă, cu cuticula rugoasă. La baza frunzei rar sunt peri mari glandulari care, la uscarea produsului vegetal cad, de aceea nu prezintă valoare diagnostică.

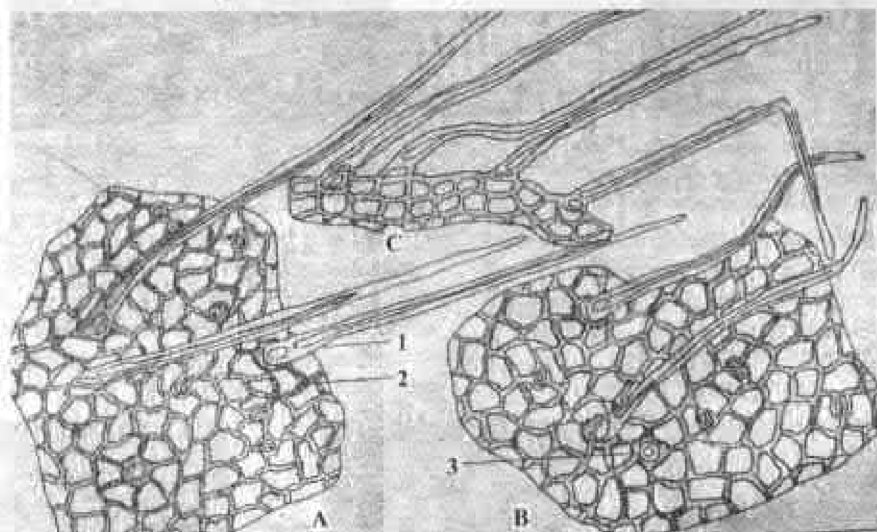


***Fig. 109.* Preparat superficial din frunza de coşaci (x280):** *A* – epiderma inferioară; *B* – epiderma superioară; *C* – marginea frunzei. *1* – peri tectori; *2* – îngroşări moniliforme ale pereţilor celulari; *3* – locul fixării perilor

CYANI HERBA – părţi aeriene de albăstrele

Planta producătoare: ***Centaurea cyanus*** L. – albăstrele

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: amestec din fragmente de tulpini, frunze, calatidii şi flori separate marginale, centrale şi bractei. Tulpinile sunt subţiri (2–3 mm în diametru), fistuloase, striate, cu coaste slab proeminente, de culoare albă. Frunzele bazilare penat-partite, cele din partea superioară a tulpinei – liniare, cu nervura mediană bine pronunţată, scurt peţiolate. Ambele suprafeţe sunt acoperite cu peri lungi, pâsloşi, care determină culoarea verde-albicioasă a frunzei. Florile sunt grupate în inflorescenţe calatidii heterogene cu diametrul de 3 cm. Florile de pe disc sunt tubuloase, violacee, bisexuate, cu lungimea de 1 cm. Caliciul este metamorfozat în peri, androceul – gamostemon, format din 5 stamine concrescute prin anterele lor, formând un tub prin care trece stilul pistilului; gineceul cu ovar inferior bicarpelar. Florile marginale în formă de pâlnie, albastre, sterile, zigomorfe, cu lungimea de până la 2 cm. Corola din 5-8 lobi înguşti, lanceolaţi, cu baza tubuloasă, de 6 mm lungime. Involucrul din bractee verzi-cenuşii cu apendici externi şi medii triunghiulari, fimbriaţi pe margine, de 12-15 mm lungime şi 5-9 mm lăţime.

Mirosul produsului vegetal slab, specific.

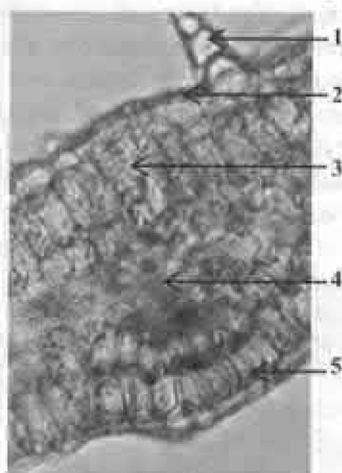


Fig. 110. **Frunza în secţiune transversală (x40):** *1* – păr tector pluricelular, *2* – epiderma superioară, *3* – ţesut palisadic, *4* – fascicul conducător, *5* – epiderma inferioară

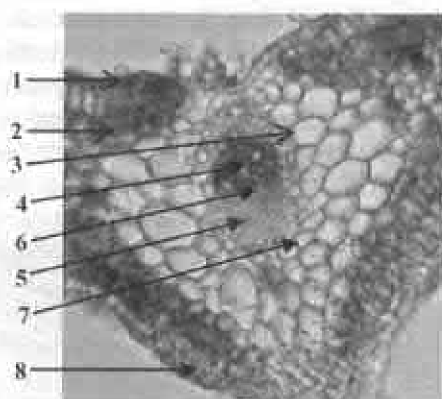


Fig. 111. **Secţiune transversală prin nervura principală a frunzei (x40):** *1* – epiderma superioară, *2* – clorenchim, *3* – colenchim, *4* – xilem, *5* – floem, *6* – fascicul conducător, *7* – laticifer, *8* – epiderma inferioară

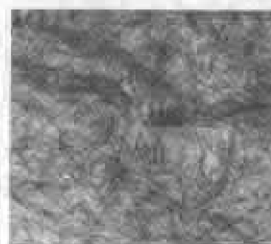


Fig. 112. **Peri tectori de pe frunză şi laticifere (x10)**



Fig. 113. **Păr tector în formă de şvichi (x40)**

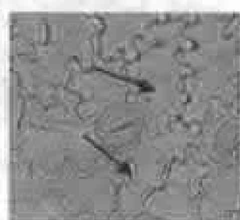


Fig. 114. **Fragment din epiderma inferioară a frunzei (x40):** *1* – celulele epidermei, *2* – stomată

Caracterele microscopice: pe secțiunea transversală prin frunză *(fig. 110-114)* se disting epidermele superioară și inferioară, ce cuprind mezofilul bine dezvoltat. Celulele epidermei sunt poligonale, împachetate compact, acoperite cu cuticulă. În epidermă se observă stomate și trihomi. Frunzele amfistomatice, cu stomate de tip anomocitic. Perii tectori, care se dezvoltă din abundență pe suprafața abaxială a frunzei, sunt lungi, pluricelulari, subțiri, răsuciți, vârful în formă de șvichi, baza ușor dilatată. Clorenchimul din celule cu un număr mare de cloroplaste, cilindric-alungite, cu spații intercelulare mari. Fasciculele conducătoare de tip colateral închis sunt înconjurate de celulele țesutului mecanic de tip colenchim. Un fascicul vascular bine dezvoltat este situat în nervura principală, mai mici – în nervurile secundare. Sunt prezente laticiferele.

CERASORUM STIPITES – codițe de cireșe sau vișine

Plante producătoare: ***Cerasus avium*** (L.) Moench – cireș; ***C. vulgaris*** (L.) Mill – vișin

Fam. **Rosaceae**

Caractere macroscopice: fragmente subțiri, cilindrice, aplatisate la cele două capete. Diametrul 0,5-1 mm, lungimea 4-5 cm, culoarea verzuie sau brună.

Miros slab, gust amărui, astringent.

CRATAEGI FLORES – flori de păducel

Planta producătoare: ***Crataegus oxyacantha*** L.; ***C. sanguinea*** Pall – păducel

Fam. **Rosaceae**

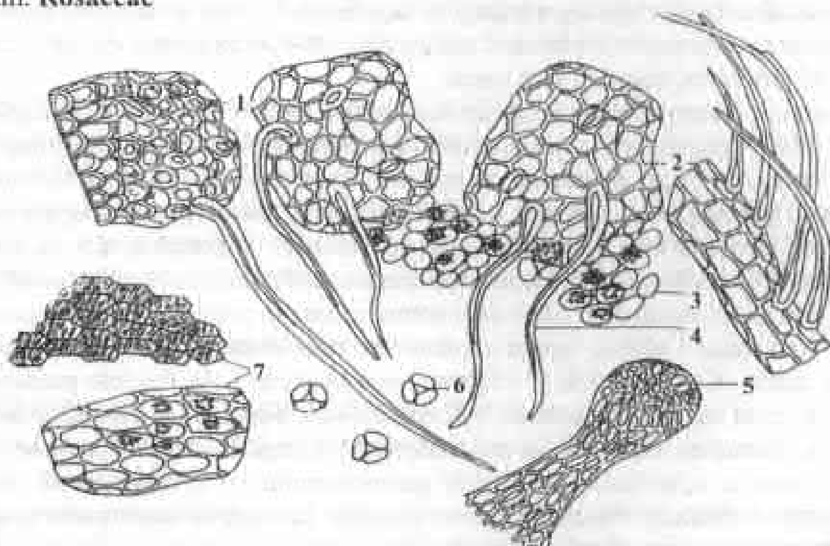


***Fig. 115.* Preparat superficial din flori de păducel (x280):** *1* – epiderma petalei; *2* – epiderma sepalei; *3* – mezofil cu druze de oxalat de calciu; *4* – peri; *5* – glandă; *6* – polen; *7* – țesutul ovarului

Caractere macroscopice: produs vegetal din inflorescențe corimb sau fragmentele lor, precum și din flori și muguri florali. Florile sunt actinomorfe, având 1,5-1,7 cm în diametru. Corola și caliciul pentamere. Petalele ovale, aproape rotunde, cu marginile puțin ondulate, de culoare alb-crem. Sepalele triunghiulare, rotungite sau ascuțite, verzui.

Androcelul din 20 de stamine cu antere roşiatice. Gineceul din 3-5 carpele concrescute cu receptaculul concav. Ovarul inferior, în formă de con.

Miros slab, caracteristic; gust amărui, slab mucilaginos.

Caractere microscopice: florile de păducel se fierb în apă şi apoi se introduc în soluţie de cloralhidrat *(fig. 115)*. Celulele epidermei, sepalelor şi petalelor, au pereţi drepţi, uşor sinuoşi, la bază şi pe margine cu cuticulă cutată. Stomate rare, înconjurate de 5-8 celule. Epiderma petalelor cu excrescenţe mamilare. Se observă peri tectori, unicelulari, cu pereţii groşi, netezi, de diferite dimensiuni. Pe marginea sepalelor glande mari multicelulare, cu conţinut cafeniu-gălbui. Mezofilul sepalelor, petalelor, ovarului conţine druze de oxalat de calciu. Ţesutul de la baza ovarului din celule cu îngroşare reticulară sau spiralată. Polenul sferic, cu suprafaţa netedă şi trei excrescenţe ovale.

CRATAEGI FRUCTUS – fructe de păducel

Planta producătoare: ***Crataegus oxyacantha*** L.; ***C. sanguinea*** Pall – păducel

Fam. **Rosaceae**

Caractere macroscopice: fructe false de tip poamă, ovale sau globulare, tari, cu numeroase zbârcituri, având la partea inferioară restul pedunculului sau cicatricea sa, iar la partea superioară, mai plată, resturile uscate ale marginii receptaculului, caliciului şi stigmatelor. Culoarea fructelor – roşie-închisă sau brună-roşiatică (păducel-ghimpos), roşie-portocalie sau portocalie (păducel-roşu). Pe suprafaţa fructului depuneri albe de zahăr cristalizat. Fructul conţine 2-3 sâmburi (păducel-ghimpos) sau 3-4, uneori 5 (păducel-roşu). Sâmburii au formă triunghiulară neregulată, lignificaţi; suprafaţa galbenă-deschisă, zbârcită, cu gropiţe sau fisuri. În interiorul sâmburilor se găseşte o sământă. Dimensiunile fructelor: lungimea 0,8-1,4 cm şi lăţimea 0,6-1 cm.

Gustul amilaceu, dulceag, fără miros.

Caractere microscopice: secţiune transversală prin fruct şi preparat după macerare *(fig. 116)*. Celulele epidermei fructului sunt tetraunghiulare, cu pereţi îngroşaţi şi conţinut cafeniu-gălbui; în partea de sus se observă stratul gros al cuticulei. Pe epidermă se găsesc peri tectori rari, unicelulari, netezi, uşor sinuoşi. Marginea inelară cu numeroşi peri sub formă de excrescenţe unicelulare, cu pereţi subţiri cu umflături, bonţi şi lărgiţi la bază, cu un conţinut roşu-întunecat. Parechimul fundamental (mezocapul) al fructului constă din celule oval-rotunde, care în produsul vegetal sunt adesea turtite şi deformate. Celulele conţin carotenoide, mici druze şi cristale prismatice de oxalat de calciu. Carotenoidele – culoarea roşie-portocalie (în fructele proaspete), în produsul vegetal veşted au culoarea galbenă-închisă. Fasciculele conducătoare colaterale, în secţiune, au aspect oblic sau transversal. Lângă fasciculele mari se observă straturi de celule sclerificate şi celulele parenchimului cu cristale aparte, în unele locuri formând cuticule. Fasciculele mici constau din câteva vase (inelare, spirale), fără celule mecanice, cu cristale şi fără ele.

În preparatul obţinut prin macerare, celulele de la suprafaţa epidermei fructului sunt poligonale, mai rar uşor sinuoase; cuticula pe alocuri este reticulară. Se văd straturi de celule şi parenchimul. Printre elementele seminţei se observă numeroase sclereide dispuse în straturi, grupuri sau izolate; de-a lungul fasciculelor conducătoare se găsesc celule sclerificate lungi (sclereide fibriforme), uneori la ele aderă ţesut cu cristale solitare. Epiderma seminţei din celule mici, poligonale. Sub epidermă un strat de celule cu pigment gălbui, la suprafaţă poligonale, alungite, deseori deformate, urmează

straturi de celule cu cristale prismatice mici de oxalat de calciu. Ţesutul endospermului şi embrionului conţine ulei gras şi aleuronă.

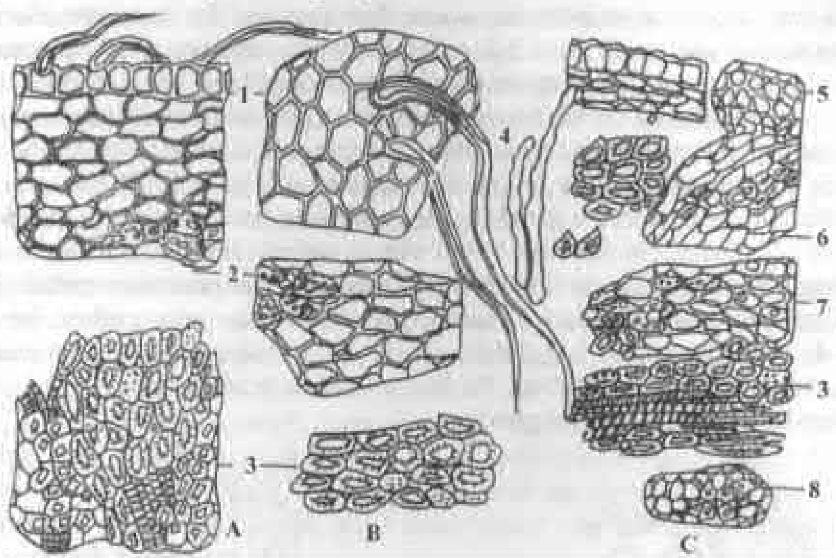


Fig. 116. **Fruct de păducel-roşu:** *A* – fragment de secţiune transversală; *B* – elementele fructului după macerare; *C* – elementele seminţei (x280). *1* – epiderma fructului; *2* –mezocarpul; *3* – celule sclerificate şi cristale prismatice în apropierea fasciculelor conducătoare; *4* – peri; *5* – epiderma seminţei; *6* – stratul pigmentat al tegumentului seminal; *7* – endospermul seminţei; *8* – ţesutul embrionului seminţei

GINKGO BILOBAE FOLIA – frunze de arbore-templier

Planta producătoare: ***Ginkgo biloba*** L. – arbore-templier

Fam. **Ginkgoaceae**

Caractere macroscopice: frunzele au formă bilobată, lung peţiolate, cu numeroase nervuri care pornesc de la bază şi se ramifică dihotomic, cu aspectul de evantai. Sunt groase, pieloase, cu marginea superioară inegal emarginată, de culoare verde-deschis.

Gust slab astringent, mirosul lipseşte.

HELICHRYSI ARENARII FLORES – flori de siminoc

Planta producătoare: ***Helichrysum arenarium*** (L.) Moench. – siminoc (imortelă)

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din inflorescenţe corimb, alcătuite din 20-30 de calatidii mici sau din părţi de inflorescenţă, uneori calatidii solitare. Calatidiile sunt sferice sau puţin alungite, cu diametrul de 4-7 mm, cu resturi de pedunculi în formă de perişori albi, şi lungimea de circa 1 cm. Involucrul din 3-4 rânduri de bractee galbene-deschis, dispuse imbricat. Bracteele involucrului uscate, peliculare, lucitoare; cele externe lat lanceolate; cele interne – liniare. Toate bracteele au câte o fâşie brună la mijloc şi marginile peliculate. La calatidiile complet desfăcute bracteele involucrului au vârful recurbat (produs vegetal colectat cu întârziere). Receptaculul e neted sau puţin convex, cu bractee mici. Un calatidiu constă din 30-45 de flori tubuloase, prevă-

zute cu rostru. Florile marginale, nu prea numeroase (în număr de 5-7), au tubul lung, îngust, filiform, cu 5 dinţişori, cu pistil sau sunt bisexuate, de culoare galbenă-deschisă. În produsul vegetal colectat cu întârziere aceste flori sunt mai des scuturate. Florile centrale sunt numeroase, mici, de 1,5-2 ori mai mici ca cele marginale, bisexuate, au 5 dinţişori şi suplimentar 3-4 dinţi mai mici de culoare galbenă sau portocalie.

Mirosul produsului vegetal este slab, aromat, gustul amărui, condimentat.

Caractere microscopice: preparatul se obţine prin fierberea produsului vegetal în apă. Se examinează apoi în soluţie de cloralhidrat *(fig. 117)*. Florile, mai ales la capătul dinţilor, au numeroase glande ovale pe piciorus unicelular scurt; glandele sunt dispuse în 1-2 rânduri (în straturi), având adesea cuticula umflată sub formă de veziculă. Marginea dinţişorilor la flori este fibriantă, din excrescenţe mamilare. Ţesutul ovarului are epiderma prevăzută cu numeroase excrescenţe mari umflate, iar la bază un rând de celule mecanice. La vârful ovarului se observă rostrul din peri mari, fărâmicioşi, drepţi sau puţin recurbaţi. Pe faţa externă a bracteei involucrului sunt numeroşi peri tectori, unicelulari şi glande.

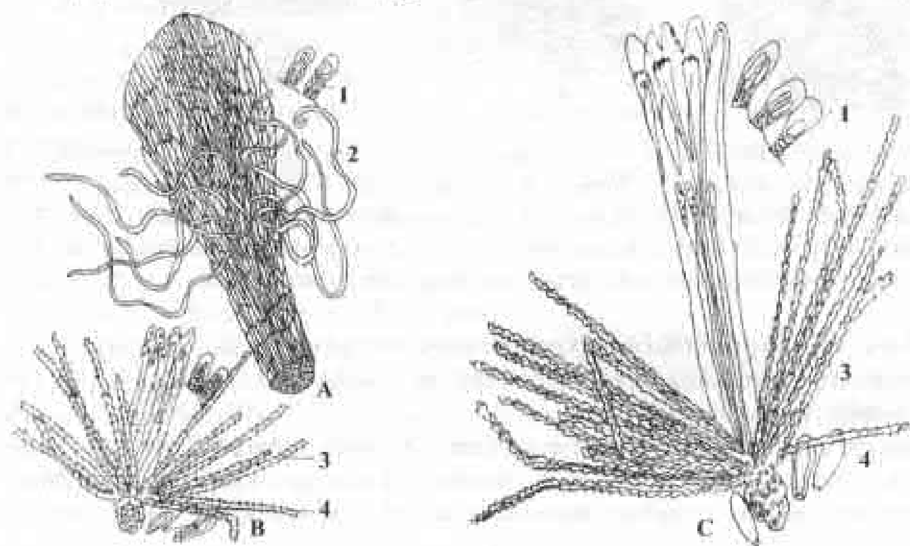


***Fig. 117.* Inflorescenţă de siminoc (x72):** *A* – bracteea involucrului; *B* – floare tubuloasă centrală; *C* – floare tubuloasă marginală. 1 – glande; *2* – peri fragelaţi; *3* – perii rostrului; *4* – excrescenţele ovarului

LEONURI HERBA – părţi aeriene de talpa-gâştei

Planta producătoare: ***Leonurus quinquelobatus*** Gilib. (syn. ***L. villosus*** Desf.) şi ***L. cardiaca*** L. – talpa-gâştei

Fam. **Lamiaceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din părţi aeriene ale plantei colectate în timpul înfloririi (tulpini cu frunze şi flori). Tulpinile tetraunghiulare, drepte, neramificate, verzi-deschise, pubescente, nelignificate, cavitare, având în diametru cel mult 4 mm. Frunzele inferioare şi mijlocii lung peţiolate, rotunde sau ovale, 3-5 lobi, cei terminali ascuţiţi, la bază cuneiformi, cu marginea dinţată. Frunzele de la vârf dispuse opus şi

alternând cu inflorescențele, au formă oval-eliptică sau lanceolată, cu marginea întreagă. Toate frunzele pe fața superioară au culoare verde-închis, pe cea inferioară verde-deschis, abundent pubescente. La *L. cardiaca* pubescența este redusă. La axila frunzelor superioare sunt dispuse pseudoverticile dese ale florilor, care la vârful tulpinii formează inflorescențe spiciforme întrerupte cu lungimea de 35-40 cm. Caliciul florilor tubulos, în formă de clopoței, verde-cenușiu datorită abundenței de peri, lobii ascuțiți; în produsul vegetal colectat cu întârziere caliciul este puternic lignificat, dinții spinoși. Corola bilabiată, violetă-roză sau roză-murdară, cu labiul superior puțin concav și pubescent, cel de jos trilobat, puțin tomentos.

Gust amărui, miros slab.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunze *(fig. 118)*. Celulele epidermei cu pereții laterali sinuoși, mai ales pe partea inferioară. Stomatele prezente numai pe partea inferioară, înconjurate de 3-4, mai rar de două, celule. Glandele cu ulei volatil sunt dispuse pe ambele fețe ale frunzei, în adânciturile epidermei, mai des incolore, rotunde, diferite după dimensiuni, formate din 2-4-6, mai rar 8, celule secretoare, slab diferențiate. Perii glandulari au un piciorus din 1-2 celule, cu o glandă sferică din 1-2 celule. Perii tectori din 3-5 celule, mai rar sub formă de excrescență unicelulară (pe marginile frunzei). Celulele perilor în locul articulațiilor sunt dilatate, pereții vizibil îngroșați, suprafața verucoasă.

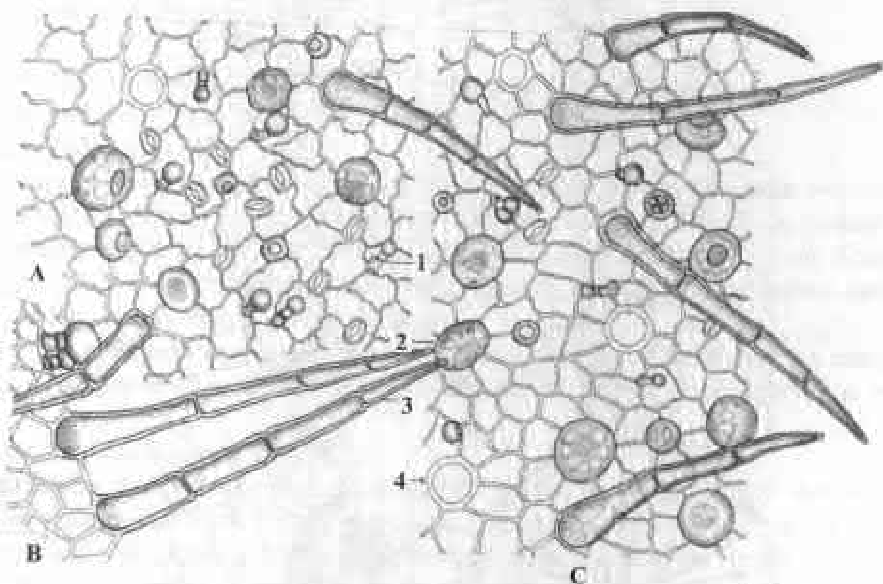


***Fig. 118.* Preparat superficial din frunze de talpa-gâștei (x280):** *A* – epiderma inferioară; *B* – peri pe marginea frunzei; *C* – epiderma superioară. *1* – peri glandulari; *2* – glande; *3* – peri tectori; *4* – locul de fixare a părului tector

Impurificări posibile. *Leonurus tataricus* L. Prezintă numeroase tulpini, frecvent ramificate în partea superioară, cu frunzele glabre, rotunde, baza cordiformă, sectate în lobi înguști, contur romboidal-alungit, care la rândul lor sunt divizați în lobi liniar-lanceolați. Florile în verticile, care în vârful tulpinii formează o inflorescență spiciformă, mai jos dispuse mai rar. *L. glaucenses* Bge. Are câteva tulpini, rar solitare și rami-

ficate. Frunzele cu contur rotunjit, cu bază dreaptă, pentapartite, aproape până la bază în lobi înguști cuneiformi, care, la rândul lor sunt penat-segmentați în lobi liniari. Inflorescența alungită cu verticile. Corola roză-deschisă. Toată planta este albăstruie datorită abundenței de peri scurți. *L. sibiricus* L. Prezintă tulpini numeroase, ramificate în partea superioară, mai rar la bază, pe fațete se observă șanțuri. Fața superioară a frunzelor rugoasă, cea inferioară cu peri pe nervuri, împărțită în trei lobi rombici cu contur ovat și bază cuneiformă, împartiți în trei lobi. Inflorescența alungită cu verticile. Corola roză.

ONONIDIS RADICES – rădăcini de osul-iepurelui
Planta producătoare: ***Ononis arvensis*** L. – osul-iepurelui
Fam. **Fabaceae**

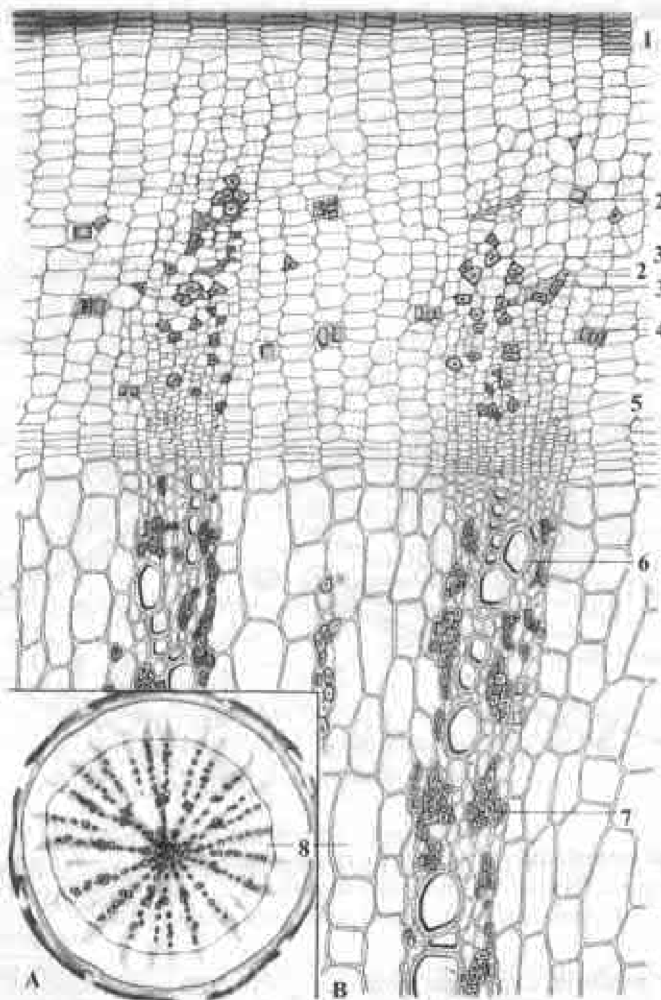


***Fig. 119.* Secțiune transversală prin rădăcina de osul-iepurelui:** *A* – schema secțiunii transversale (x16); *B* – fragment de secțiune transversală (x280). *1* – suber; *2* – elemente obliterate; *3* – fibre liberiene; *4* – cristale de oxalat de calciu; *5* – liber; *6* – vase lemnoase; *7* – raze medulare; *8* – filamente libriforme

Caractere macroscopice: produs vegetal din rădăcini, uneori cu resturi de rizomi, lungimea 8-40 cm și diametrul 0,5-2,5 cm. Rădăcinile cilindrice, uneori triunghiulare sau ușor turtite, răsucite, drepte sau îndoite, foarte tari, lemnoase. Suprafața rădăcinilor brună-cenușie, cu striuri longitudinale; suberul în unele locuri stratificat. Fractura fibroasă, culoarea rădăcinii în fractură albă-cenușie sau albă-gălbuie.

Mirosul slab, specific; gustul puțin astringent, amărui-dulceag.

Caractere microscopice: secțiune transversală prin rădăcină (*fig. 119*). Țesutul protector al rădăcinii, suberul, este pluristratificat, descuamat, de culoare cenușie-gălbuie. Scoarța este îngustă. Elementele conducătoare ale liberului formează porțiuni nu prea mari, despărțite de raze medulare largi, alcătuite din celule tangențial alungite. Elementele mai mature ale liberului sunt adesea obliterate. Fibrele liberiene sunt relativ numeroase, având în secțiune diferite forme și diametre, dispuse în grupuri și solitar. În celulele razelor medulare se întâlnesc cristale mari de oxalat de calciu de formă prismatică sau octaedrică, solitare sau câte 2-3 în celulă. Linia cambiului clară. Lemnul radiar: fâșiile radiale înguste, din trahei și traheide, fibrele libriformului și celulelor mici ale parenchimului lemnos se rânduiesc cu raze medulare late.

Celulele parenchimului lemnos și celulele alăturate razelor medulare conțin cristale de oxalat de calciu, deosebit de numeroase în apropierea libriformului. Celulele razelor medulare sunt foarte mari, radial alungite, cu membrane puțin îngroșate și poroase. În unele locuri, prin razele medulare trec filamente radiale, din fibre de libriform și celule cristaligene mici.

POLYGONI AVICULARIS HERBA – părți aeriene de troscot

Planta producătoare: ***Polygonum aviculare*** L. – troscot

Fam. **Polygonaceae**

Caractere macroscopice: tulpini cu lungimea de 10-30 cm, verzi sau violete-purpurii, ramificate. Ramurile lungi, cilindrice, cu suprafața ușor striată, cu noduri umflate. Distanța dintre noduri 1-1,5 cm, iar dintre nodurile inferioare 2-3 cm. Frunzele au lungimea 1,5-2 cm și lățimea 0,5-1 cm, eliptice sau lanceolate, uneori aproape liniare, pe o plantă toate având aceeași formă.

Ochreea albă, pe margine de culoare ruginie, biseparate. Florile mici, cu marginea albuie sau roză, în teacă, câte 1-5 în axila frunzelor, pe toată lungimea tulpinii și ramurilor.

Gust slab mucilaginos, fără miros.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunze *(fig. 120)*. Ambele epiderme ale frunzei din celule relativ mari, cu contur poligonal sau puțin sinuos (epiderma inferioară). Majoritatea celulelor epidermei izodiametrice sau puțin alungite pe lățimea frunzei, ceea ce se observă foarte bine pe epiderma inferioară. Pe epiderma superioară a frunzei îngroșări ale membranelor celulelor. Cuticula pe marginea frunzei și pe nervurile mai mari cutată. Stomatele prezente pe ambele epiderme ale frunzei, pe cea inferioară mai numeroase, sunt ovale, înconjurate de 3 celule anexe, dintre care una este cu mult mai mică decât celelalte. Pe marginea frunzei sunt dispuse 1-3 rânduri de celule cu membrane groase ce formează mameloni asemănători perilor scurți. Asemenea peri se întâlnesc și pe nervura principală. În mezofilul frunzei numeroase druze de oxalat de calciu de diferite dimensiuni, fibre mecanice lungi, cu contur sinuos și pereții îngroșați, aranjate, de obicei, de-a lungul nervurii, atât pe partea superioară,

cât și inferioară. Fibrele formează o căptușeală mecanică de-a lungul marginei frunzei, având ramificații ce pleacă departe de nervuri. Fibrele mecanice se formează în frunză cu vârsta, de aceea în frunzele mai tinere ele sunt în număr mic și pereții lor sunt slab îngroșați.

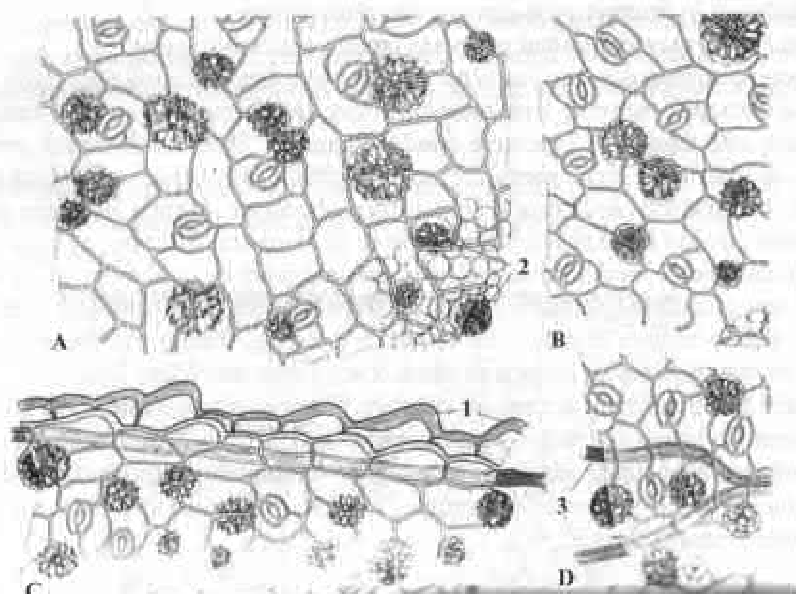


Fig. 120. **Preparat superficial din frunze de talpa-gâștei (x280):** *A* – epiderma superioară; *B* – epiderma inferioară; *C* – marginea frunzei; *D* – fragment de frunză pe ramificația fibrelor mecanice. *1* – excrescențe mamilare; *2* – druze de oxalat de calciu; *3* – fibre mecanice

POLYGONI HYDROPIPERIS HERBA – părți aeriene de piperul-bălții

Planta producătoare – ***Polygonum hydropiper*** L. – piperul-bălții

Fam. **Polygonaceace**

Caractere macroscopice: produs vegetal din tulpini cu frunze, cu lungimea de circa 15 cm, cu flori, parțial cu fructe. Tulpinile sunt slab ramificate, cilindrice, cu coaste și noduri umflate. Frunzele dispuse altern, cu lungimea până la 6 cm și lățimea de circa 1,5 cm, alungit lanceolate, cu marginea întreagă, baza cuneiformă prevăzute cu pâlnii membranoase roșii-brune, pe margine scurt ciliate. Inflorescențele prezintă raceme subțiri spiciforme, cu lungimea de până la 6 cm, din flori mici de circa 4 mm lungime, roze-verzui. Perigon petaloid, din 4-5 lacinii, sub lupă cu puncte brune (pungi). Fructele prezintă nucule (lungimea de circa 3,5 mm) mate, brune-verzui, de forma eliptică, trimuchiate, cu vârful bont.

Impurificări posibile. *P.mite* Schrank. Frunzele au pâlnie lung-ciliată, acoperită cu peri. Inflorescența îngustă, neîntreruptă. Pe periant lipsesc pungile. *P. minus* Huds (troscoțel). Frunze cu ochree ca la *P. mite,* inflorescența compactă. *P. persicaria* – iarbă-roșie.

La celelalte specii înrudite, inflorescențele sunt dense, groase, greu distinctive de piperul-bălții.

Numai piperul-bălții în stare proaspătă posedă gust iute.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunză *(fig. 121)*. Celulele epidermei au pereții sinuoși, cu numeroase stomate. Pe ambele epiderme ale frunzei glande mici, incolore sau brune-deschise, alcătuite din 2-4 celule. În mezofilul frunzei pungi mari rotunde sau ovale, de culoare brună-deschisă ori brună. În interiorul pungilor un strat de celule secretoare și picături cu un conținut brun. Sunt caracteristice numeroase druze de oxalat de calciu, cu vârfurile ascuțite. Pe marginea frunzei peri fasciculați mari din câțiva peri simpli solitari, strâns alipiți unul de altul. În celulele epidermei, după decolorarea frunzei într-o soluție alcalină, se observă un conținut de culoare brună.

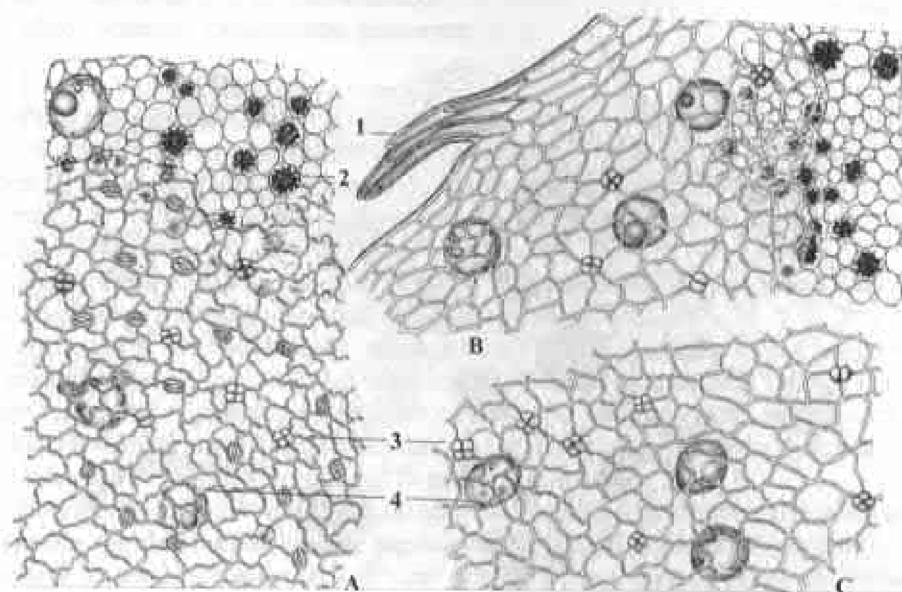


Fig. 121. **Preparat superficial din frunza de piperul-bălții (x280):** *A* – epiderma inferioară; *B* – marginea frunzei; *C* – epiderma superioară. *1* – păr fasciculat; 2 – druze de oxalat de calciu; 3 – glande; 4 – cavități

PERSICARIE HERBA – părți aeriene de iarbă-roșie

Planta producătoare: ***Polygonum persicaria*** L. – iarbă-roșie

Fam. **Polygonaceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din tulpini cu frunze și inflorescențe în vârful ramurilor. Tulpina ramificată sau simplă, cu coaste longitudinale și noduri umflate. Frunzele alterne, lanceolate, liniar-lanceolate, cu marginea întreagă, aproape sesile, cu baza cuneiformă; frunzele interioare cu pețioli dezvoltați. Limbul cu lungimea de 3-10 cm; lățimea 0,5-2 cm. Tulpina cu ochree lungi, ciliate. Inflorescența – racem dens, periantul roz-brun sau brun-deschis. Fructul nuculă lanceolată sau trimuchiată, neagră, lucitoare. Culoarea produsului vegetal verde, la nodurile tulpinii verde-brună. Petalele roșii-brune de pe frunzele proaspete la uscare dispar.

Miros slab, gustul amărui, ușor astringent.

Caractere microscopice: preparat superficial din frunze *(fig. 122)*. Celulele epidermei superioare a frunzei cu pereții drepți sau slab sinuoși, îngroșați, de obicei, cu un conținut brun. Se observă stomate rare, înconjurate de 2-3 celule anexe, cu ostiola

așezată de-a lungul axei celulelor anexe. Epiderma inferioară din celule cu contur sinuos, membrane subțiri, numeroase stomate, înconjurate de 3-4 celule anexe. Pe suprafața frunzei se întâlnesc glande și peri, pungile lipsesc (ceea ce le deosebește de piperul-bălții). Glandele sunt rotunde, pluricelulare, cu conținut brun sau incolor, se disting după mărime și numărul celulelor secretoare (mai des 8-10). Peri fasciculari din 2-5 celule se întâlnesc pe marginea și pe întreaga suprafață a frunzei (spre deosebire de piperul-bălții, la care perii se observă numai pe margine). În mezofilul frunzei numeroase druze de oxalat de calciu. Pe epiderma frunzelor tinere perii sunt foarte lungi, simpli sau ramificați, subțiri. Pe preparat sunt în număr mic, de aceea nu prezintă importanță diagnostică.

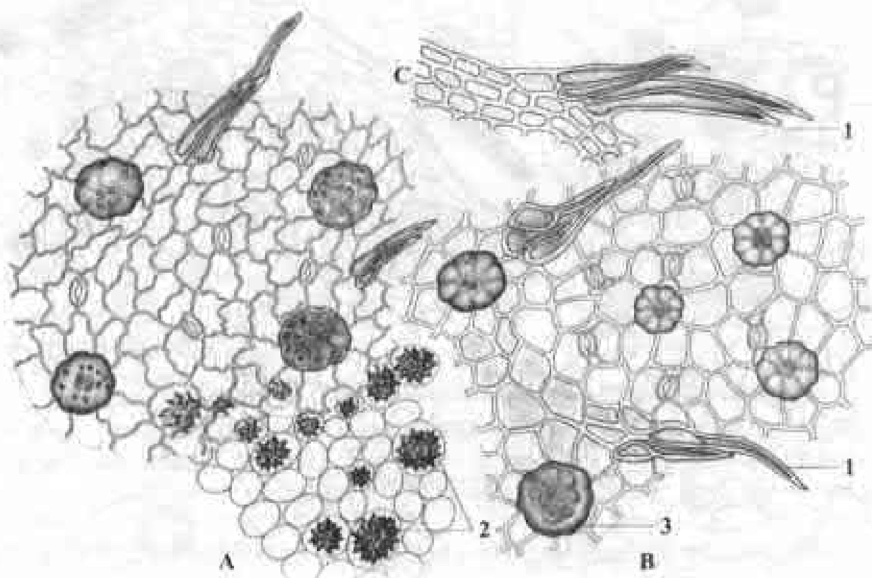


Fig. 122. **Preparat superficial din frunza de iarbă-roșie (x280):** *A* – epiderma inferioară; *B* – epiderma superioară; *C* – marginea frunzei. *1* – peri fasciculați; *2* – druze de oxalat de calciu; *3* – glande

SCUTELLARIAE BAICALENSIS RHIZOMATA ET RADICES – rizomi și rădăcini de gura-lupului

Planta producătoare: ***Scutellaria baicalensis*** Georgi – gura-lupului

Fam. **Lamiaceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din rizomi și rădăcini cu lungimea de 5-14 cm și diametrul de 3 cm și din fragmentele acestora, rezultate în urma tăierii lor longitudinale și transversale. Rizomii sunt conici, alungiți, puțin răsuciți de-a lungul axei, sau cilindrici, uneori cu resturi de tulpini cu lungimea de circa 1 cm. Fragmentele de rizomi, în majoritatea cazurilor, sunt despicate longitudinal, alungite, plate, cu suprafața rugoasă. Rădăcinile cilindrice, uniforme, cu zbârcituri longitudinale. Culoarea produsului vegetal brună-deschisă, cafenie-brună. Fractura fragmentelor neregulată, granuloasă, galbenă-deschisă. Produsul vegetal este ușor, fărâmicios, măduva în rizomii bătrâni poroasă, des absentă.

Miros slab, gust amărui, ușor astringent.

TANACETI FLORES – flori de vetrice

Planta producătoare: ***Tanacetum vulgare*** L. – vetrice

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din inflorescențe-calatidii unite în corimb, părți ale lor sau calatidii solitare. Calatidiul are formă semisferică, diametrul de 7-12 mm. Într-un calatidiu sunt adunate circa 200-250 de flori mici tubuloase, așezate pe un receptacul gol, puțin convex. Bracteele involucrului, aranjate imbricat în 4-5 rânduri, sunt lanceolate, verzi-cenușii, cu o fâșie peliculară de culoare mai deschisă sau brună. Florile marginale cu pistil, cu trei dinți, cele centrale cu 5 dinți, bisexuate. Staminele, în număr de 5, concrescute la nivelul anterelor.

Miros puternic, caracteristic, gust amar.

3.14.2. Analiza chimică

Proprietăți fizico-chimice. În stare pură, flavonoidele reprezintă compuși cristalini cu o anumită temperatură de topire, colorate, în funcție de pH-ul mediului, în galben (flavone, flavonoli, calcone etc), incolore (izoflavone, catechine, flavonone, flavononoli), în roșu sau albastru (antociani). În mediu acid au nuanțe de roșu sau trandafiriu, în mediu bazic – albastru.

Agliconii flavonoidelor se dizolvă în eter etilic, acetonă, cei care conțin mai mult de 3 zaharuri în apă, dar sunt insolubili în eter și cloroform.

Agliconii și heterozidele flavonoidelor sunt lipsite de miros, uneori au gust amar. De exemplu, toate flavonon-7-β-neohesperozidele sunt substanțe amare. Cele mai amare, năringina și poncirina, sunt aproximativ de 5 ori mai amare decât hidroclorura de chinină. Gustul amar este determinat de structura componentului glucidic al neohesperidozei (2-O-L-ramnopiranozil-D-glucopiranoza).

Heterozidele flavonoidice posedă activitate optică. Una dintre particularitățile caracteristice ale flavonozidelor este capacitatea hidrolizei acide și fermentative. Viteza hidrolizei și condițiile efectuării ei sunt diferite pentru diverse grupe de flavonoide. Astfel, flavonol-3-heterozidele hidrolizează ușor la încălzirea cu acizi minerali slabi (0,1-1%), iar flavon-7-heterozidele hidrolizează numai la încălzirea cu acizi minerali (5-10%) timp de câteva ore. Heterozidele flavonoidice nu se supun hidrolizei la acțiunea fermenților și acizilor diluați, hidroliza lor se înfăptuiește cu amestecul *Killiani* (amestec de HCl și acid acetic).

Izolare. Pentru obținerea flavonoidelor se efectuează extracția produsului vegetal, de regulă, cu unul dintre alcoolii inferiori. Extractul alcoolic se evaporă, la reziduu se adaugă apă fierbinte și după răcire se înlătură compușii nepolari (clorofila, acizii grași, uleiurile volatile etc.) din faza apoasă cu cloroform sau tetraclorură de carbon. Flavonoidele din faza apoasă se extrag consecutiv cu eter etilic (agliconii), acetat de etil (majoritatea monozidelor) și cu butanol (biozidele, triozidele).

Pentru separarea componenților fiecărei fracții se folosește cromatografia în coloană cu silicagel, cu sorbent de poliamidă sau celuloză. Eluarea substanțelor se efectuează cu amestec de cloroform și alcool metilic cu concentrația crescândă a alcoolului metilic, cu amestec apos de alcool cu concentrația crescândă a alcoolului, dacă sorbentul este poliamidă, sau cu acid acetic de 5-30 %, în cazul celulozei.

Pentru izolarea flavonoidelor individuale există metode specifice. Astfel, pentru eliminarea rutozidei din flori de salcâm-galben, extracția se efectuează cu apă fierbinte. La răcirea extractelor apoase, rutozida sedimentează, se filtrează și se purifică prin recristalizare din alcool.

La identificarea flavonoidelor se iau în considerare proprietățile fizico-chimice: 1) determinarea temperaturii de topire; 2) determinarea rotației specifice ($[\alpha]_D$ a heterozidelor); 3) compararea spectrelor UV, IR, *mas*- și RMP cu spectrele substanțelor cunoscute.

Spectrul UV al flavonoidelor se caracterizează prin prezența, de regulă, a două maxime de absorbție. Poziția maximelor și intensitatea lor sunt caracteristice pentru diferite grupe de flavonoide. Heterozidele flavonoidice, derivații cvercitolului (de exemplu, rutozida) au 2 maxime de absorbție la 258 și 361 nm și „brațul" de 266 nm. În scopul identificării substanței se folosesc poziția maximelor și „brațului", mărimea $E^{1\%}_{1cm}$. Această mărime pentru rutozida este egală cu 325,5, în cazul monoheterozidei cvercitrina aceasta este în jurul la 350, la aglicon (cvercetol) – 718. Spectroscopia UV se folosește cu succes pentru stabilirea grupelor OH libere în molecula flavonoidelor prin adăugarea diferitor reactive (acetat de sodiu, metilat de sodiu, acid boric cu acetat de sodiu, clorură de aluminiu etc). La adăugarea acestor reactive se produce devierea maximelor de absorbție, caracteristică pentru grupele hidroxilice în diferite poziții.

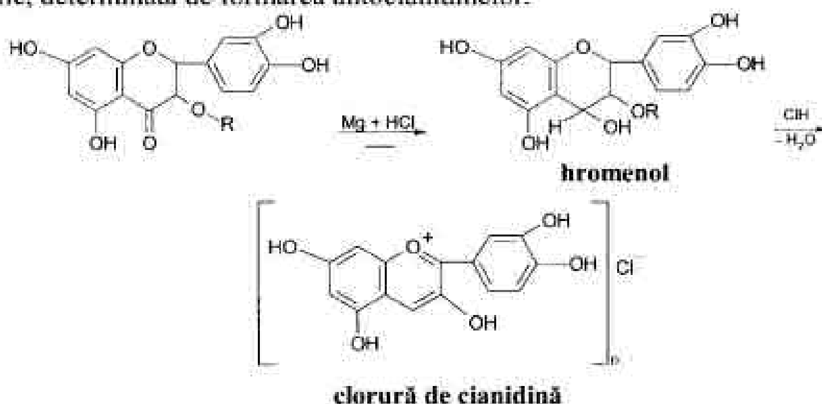
În spectrul IR al flavonoidelor sunt fâșii de absorbție, specifece pentru diferite grupe. Astfel, rutozida are o fâșie la 3200-3500 cm^{-1}, determinată de grupele hidroxilice fenolice și alcoolice; fâșia 1660 cm^{-1} aparține grupei carbonile; pentru legăturile aromatice C=C 1610, 1580, 1510, 1460 cm^{-1}. Pentru identificarea flavonoidelor este importantă așa-numita regiune „amprenta digitală" 800-1200 cm^{-1}. Coincidența fâșiilor grupelor sus-numite și regiunii „amprenta digitală" servește drept indice sigur al identității substanțelor.

Determinarea calitativă

Pregătirea extractului din produsul vegetal: 1 g de produs vegetal mărunțit (părțile aeriene de hrișcă, boboci florali de salcâm-galben, flori de vetrice etc.) se plasează într-un balon cotat de 25 ml și se adaugă 10 ml de alcool etilic. Balonul se unește cu refrigerentul ascendent și se încălzește la baia de apă 10 minute din momentul fierberii alcoolului în balon. Soluția extractivă caldă se filtrează și servește la efectuarea reacțiilor de identificare.

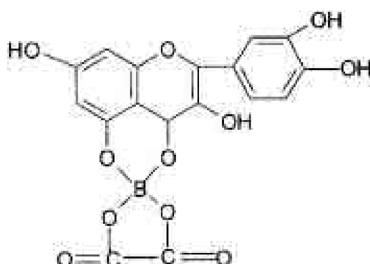
Reacții generale, specifice pentru toate grupele de flavonoide, lipsesc. Cel mai des se folosesc următoarele:

Reacția cianidolului sau proba Shinoda. Flavonolii, flavanonele și flavonele la reducerea cu magneziu, în prezența acidului clorhidric, prezintă o culoare roșie sau portocalie, determinată de formarea antocianidinelor.

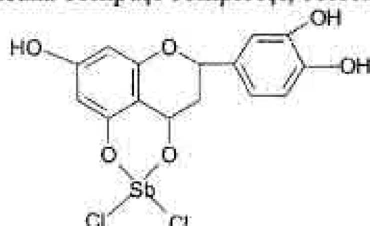


Pentru calcone şi aurone reacţia cianidinică este negativă, dar la adăugarea de HCl concentrat (fără magneziu) apare coloraţia roşie datorită formării sărurilor de oxoniu. La 2 ml de extract se adaugă 5-7 picături de HCl concentrat şi 10-15 mg de Mg sau Zn metalic. Peste 3-5 minute se observă o coloraţie roşie, portocalie sau roză. Pentru accelerarea reacţiei şi identificarea culorii se recomandă încălzirea amestecului de reacţie (2-3 minute) la baia de apă fierbândă.

Reacţia complexului oxaloboric *(R. Wilson-Taubock):* 1 ml din soluţia extractivă se evaporă la sec într-o capsulă. Reziduul se tratează cu 2-3 picături de acetonă şi se adaugă un vârf de ac spatulat de acid boric pulbere şi acid oxalic pulbere. Se evaporă din nou pe baia de apă la sec. Reziduul se dizolvă în 5 ml eter etilic. Soluţia eterică privită la lumină UV prezintă o fluorescenţă intensă galbenă-verzuie. Reacţia este pozitivă pentru 5-hidroxi-flavone şi 5-hidroxi-flavonoli, care formează un complex batocromic:



Reacţia cu triclorură de stibiu. 5-oxifliavonele şi 5-oxiflavonolii, reacţionând cu triclorura de stibiu, formează compuşi complecşi, coloraţi în galben sau roşu:



Cu soluţia de amoniac de 5 % sau de NaOH de 5 % flavonele, flavononele, flavonolii şi flavononolii prezintă o culoare galbenă, care la încălzire trece în portocalie sau roşie, calconele şi auronele au culoare roşie sau purpurie. Catechinele pure nu dau coloraţie, însă prezenţa impurităţilor (produse de oxidare) chiar în cantităţi mici provoacă apariţia culorii galbene. Antocianele, în prezenţa amoniacului sau a carbonatului de sodiu, formează o coloraţie albastră sau violetă.

Catechinele *cu soluţie de vanilină de 1 % în HCl concentrat* dau o coloraţie roşie-zmeurie (derivaţii floroglucinei şi rezorcinei).

Flavonele, calconele, auronele cu conţinut de grupe ortohidroxile libere în inelul B, la prelucrarea soluţiilor lor alcoolice cu *acetat de plumb* bazic formează precipitate, colorate în galben-aprins sau roşu. Antocianii formează precipitate colorate în roşu sau albastru.

Reacţia cu clorură ferică: gruparea OH fenolică din structura flavonoidelor prezintă caracter reducător, intensificat prin prezenţa grupei carbonil. 1 ml din soluţie extractivă se tratează cu câteva picături soluţie FeCl 1 %. Se formează o coloraţie caracteristică:

– verde – pentru 5-hidroxiflavone;
– albastră-închisă – pentru 3', 4', 5'-hidroxiflavone;
– brună – pentru 3-hidroxiflavone.

Pentru a identifica flavonoidele în produsul vegetal se folosește *cromatografia pe hârtie și în straturi subțiri de sorbent*. Prezența componenților pe cromatogramă se determină prin examinarea lor la lumina UV. La această lumină flavonele, flavonol-3-heterozidele, flavanonele, calconele se atestă sub formă de spoturi cafenii; flavonii și 7-heterozidele lor – spoturi galbene sau galbene-verzui; xantonele – spoturi portocalii. Izoflavonele nu se developează.

După examinarea la lumina UV cromatogramele se pot trata cu un reactiv (soluție alcoolică de $AlCl_3$ 5 % cu încălzirea ulterioară la 105 °C timp de 3-5 minute; soluție de $SbCl_3$ 5 % în tetraclorură de carbon; soluție alcoolică de bază 2 %), ceea ce permite de a obține zone cu o fluorescentă mai aprinsă în lumina UV.

Determinarea cromatografică. Pe un disc rotund de hârtie cromatografică, la 0,5 cm de la centru, se aplică extractul din părți aeriene de hrișcă, boboci florali de salcâm-galben, în calitate de „martor" soluții alcoolice de rutozidă și cvercetol. Diametrul petei nu trebuie să fie mai mare de 5 mm. În centrul discului se introduce un fitil din hârtie cromatografică. Cromatografierea se efectuează în cutia *Petri*, în calitate de solvent se folosește acidul acetic 15 %. Durata cromatografierii – 20-25 minute. Cromatogramele se usucă până la evaporarea solventului și se examinează la lumina UV. Se marchează zonele: rutozida (cafenie), clorofila (roșie), cvercetolul (galbenă), xantonele (portocalie). Cromatograma se tratează cu vapori de amoniac (se observă trecerea culorii în galbenă-verzuie) sau se pulverizează cu soluție de clorură de aluminiu 1 % sau oxclorură de zirconiu. După uscare, cromatogramele din nou se examinează la lumina UV. Se formează compuși cu Al (III) sau Zn (III) cu fluorescentă galbenă-verzuie aprinsă.

Analiza cromatografică a heterozidelor flavonoidice

Soluția de analizat: 0,5 g pulbere de *Sophorae japonicae flores* se extrage pe baia de apă timp de 30 minute cu 10 ml alcool etilic 96°. Se filtrează, iar soluția obținută se folosește pentru cromatografiere.

Cromatografie pe hârtie

Tehnica ascendentă

Faza staționară: hârtie *Whatman* 1.

Faza mobilă: acid acetic de 15 %.

Soluții etalon: soluție etanolică de rutozidă 0,1 %.

Revelare: pulverizare cu soluție etanolică de $AlCl_3$ 5 %, examinare în lumină UV (365 nm).

Rezultate: rutozida prezintă fluorescență galbenă.

Tehnica circulară.

Faza staționară: hârtie *Whatman* 1.

Faza mobilă: metanol:acid acetic glacial:apă (4:0,25:6).

Soluția etalon: soluție etanolică de rutozidă 0,1 %.

Revelare: pulverizare cu soluție etanolică $AlCl_3$ 5 %.

Rezultate: examinarea și delimitarea spoturilor se face în lumină UV (365 nm); rutozida prezintă fluorescentă galbenă.

Cromatografie pe strat subțire

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: acetat de etil:acid formic:acid acetic glacial:apă (100:11:11:26).

Soluția etalon: soluție etanolică de rutozidă 0,1 %.

Revelare:

- UV (fluorescența) – 365 nm.
- pulverizare cu soluție etanolică $AlCl_3$ 5 %.
- pulverizare cu reactiv NEU/PEG.

Rezultate: rutozidă – R_f= 0,4.

Analiza cromatografică a agliconilor flavonoidici

Prepararea soluției de analizat: 5 ml extract etanolic 5 % se supun hidrolizei cu 1 ml HCl 5 %, prin refluxare pe baia de apă timp de 30 minute. După răcire soluția hidrolizată se extrage cu 5 ml eter etilic în pâlnia de separare. Faza apoasă se păstrează în vederea prelucrării pentru identificarea fracțiunii glucidice din structura rutozidei. Stratul eteric se separă, se usucă pe sulfat de sodiu anhidru și se filtrează. Soluția obținută se cromatografiază.

Cromatografie pe hârtie

Faza staționară: hârtie *Whatman* 1.

Faza mobilă: acid acetic glacial:acid clorhidric concentrat:apă (30:3:10).

Soluție etalon: soluție eterică de cvercetol 0,1 %.

Revelare:

- pulverizare cu soluție etanolică de $AlCl_3$ 5 %.
- UV (fluorescență) – 365 nm.

Cromatografie pe strat subțire

Faza staționară: silicagel G

Faza mobilă: toluen:acid acetic:apă (60:22:1,2).

Soluții etalon: soluție eterică de cvercetol 0,1%.

Revelare:

- pulverizare cu soluție etanolică de $AlCl_3$ 5 %.
- UV (fluorescență) – 365 nm.

Rezultate:

- cvercetol Rf = 0,07, prezintă fluorescentă galbenă în UV.

Analiza cromatografică a glucidelor din structura flavonoidelor

Prepararea soluției de analizat: soluția apoasă, rămasă după separarea soluției eterice, se neutralizează cu carbonat de bariu, apoi se filtrează. La filtrat se adaugă 1 ml metanol. Soluția obținută servește la analiza cromatografică.

Soluții etalon: soluții metanolice 1 % de acid glucuronic, acid galacturonic, arabinoză, xiloză, ramnoză, fructoză, glucoză, galactoză.

Faza staționară: silicagel G.

Faza mobilă: n-butanol:acid acetic:apă (4:1:5).

Distanța de migrare: 10 cm.

Timp de migrare: 45 minute.

Revelare: prin pulverizare cu reactiv timol-acid sulfuric, urmată de încălzire în etuvă la 110 °C, 5 minute.

Rezultate: se obțin spoturi colorate în violet, roz cu valori Rf diferite: glucoză Rf = 0,35, galactoză Rf = 0,31, arabinoză Rf – 0,37, xiloză Rf = 0,45, ramnoză Rf = 0,52, acid galacturonic Rf =0,17, acid glucuronic Rf = 0,21.

Determinarea cantitativă

În acest scop se aplică pe larg metodele fizico-chimice de analiză care au un şir de priorităţi în comparaţie cu metodele gravimetrice şi titrimetrice: viteza şi exactitatea determinării; identificarea unor cantităţi neînsemnate; posibilitatea separării din produsul vegetal a flavonoidelor individuale. Astfel de metode sunt: fotoelectrocolorimetria, spectrofotometria, densitometria cu folosirea cromatografiei pe hârtie şi în straturi subţiri (fix şi nefix). Cromatografia se aplică atât pentru purificare, cât şi pentru separarea totalului de flavonoide în componenţi individuali.

Metoda cromatodensitometrică se consideră foarte preţioasă. Constă în separarea şi izolarea flavonoidelor prin aprecierea cantitativă densitometrică nemijlocit după zonele colorate de pe cromatogramă. Avantajele metodei constau în rapiditatea efectuării, fiind exclusă etapa de eluare, şi în exactitatea determinării.

Metoda fotocolorimecrică este bazată pe reacţia de culoare a flavonoidelor cu sărurile diferitor metale (aluminiu, circoniu, titan, crom, stibiu), cu reactivul citricobazic şi pe reacţia de reducere a zincului sau magneziului în mediu acid. Este cunoscută reacţia de culoare a flavonoidelor cu azotul şi acetatul de uranil, care permite a determina cantitativ rutozida în amestecul cu evercetol.

Deoarece compuşii flavonoidici posedă proprietăţi acide vădite (determinate de poziţia in moleculă a hidroxililor fenolici), pentru analiză se poate aplica metoda de titrare acido-bazică în solvenţi neapoşi: dimetilformamidă, dimetilsulfoxid, acetonă.

Pentru determinarea cantitativă a flavonoidelor mai rar se foloseşte polarografia şi metoda ampermetrică de titrare.

Metoda determinării cantitative a rutozidei în părţile aeriene de hrişcă şi în bobocii florali de salcâm-galben. Sursele principale de obţinere a extractului sunt bobocii florali de salcâm-galben (*Sophora japonica* L., fam. Fabaceae) şi părţile aeriene de hrişcă (*Fagopyrum sagittatum* Gilib., fam. Polygonaceae). Determinarea conţinutului de rutozidă în produsul vegetal se efectuează prin metoda spectrofotometrică.

1 g (probă exactă) de părţi aeriene de hrişcă mărunţite (dimensiunea particulelor de 1 mm) se plasează într-un balon cu fund rotund de 100 ml, se adaugă 30 ml de alcool etilic de 95 %. Balonul se cântăreşte, apoi se uneşte cu refrigerentul ascendent şi se efectuează extracţia la baia de apă timp de 1,5 ore. După aceasta, balonul se lasă să se răcorească până la temperatura camerei, se cântăreşte, se adaugă alcool până la restabilirea masei iniţiale. Extractul etanolic se filtrează prin filtru de hârtie.

20 ml din extractul obţinut se evaporă până la uscat. Reziduul uscat se dizolvă în 5 ml de alcool etilic, se filtrează prin filtru de hârtie. 0,03-0,05 ml din extractul obţinut se aplică pe linia de start a plăcii de sticlă (9×15 cm) acoperită cu un strat subţire de silicagel de tipul LS 5/40 sub formă de fâşii – trei fâşii din soluţia de analizat şi o fâşie de *„martor"*. Placa se usucă la aer 10 minute şi se cromatografiază în sistemul butanol-n – acid acetic glacial – apă (4:1:2). După ce linia solventului trece 11-12 cm, placa se scoate din cameră şi se usucă la aer până la dispariţia mirosului solventului. La lumina UV se marchează spoturile de rutozidă, care prezintă fluorescenţă în cafeniu-întunecat (Rf = 0,68). Zonele marcate de silicagel cu rutozidă şi zona probei „martor" cantitativ se trec în baloane de 25 ml şi se eluează cu 10 ml amestec dioxan – apă 1:1, agitând timp de o oră. Soluţia se trece prin filtru de hârtie.

Densitatea optică a eluaţilor obţinuţi se măsoară la spectrofotometru în cuva cu grosimea stratului de 1 cm la lungimea de undă 363 nm pe fondul etanolului probei „martor".

Conţinutul procentual al rutozidei în raport cu produsul vegetal absolut uscat se calculează după formula:

$$x = \frac{K_1 \times V_1 \times V_3 \times D_{363} \times 100}{V_2 \times D^{1\%}_{1\,cm} \times m(100 - w)0{,}667 \times l},$$

în care: K_1 – coeficientul de eluare (1,195); V_1 – volumul extractului etanolic după dizolvarea reziduului uscat, ml; V_2 – volumul extractului etanolic aplicat pe cromatogramă, ml; V_3 – volumul eluatului; D_{363} – densitatea optică a soluţiei la λ=363 nm; $D^{1\%}_{1cm}$ – indicele specific de absorbţie al rutozidei la λ = 363 nm (268,4); m – masa probei de produs vegetal, g; w – pierderea din masa produsului vegetal la uscare, %; 0,667 – coeficientul de recalcul la 20 ml de extract; l – grosimea stratului, cm.

Determinarea cantitativă a flavonoidelor din produse vegetale prin metoda spectrofotometrică, bazată pe reacţia de culoare a flavonoidelor cu soluţie de $AlCl_3$

Concentraţia în flavonoide se calculează cu ajutorul curbei etalon construită pe baza absorbantelor corespunzătoare unor soluţii de rutozidă de concentraţii diferite.

Tehnica de lucru: într-un balon cu fund rotund la 1,000 g pulbere produs vegetal se adaugă 100 ml alcool etilic 50 % şi se încălzeşte la fierbere, pe baia de apă, la reflux, timp de 30 minute. Soluţia fierbinte se filtrează prin vată într-un balon cotat şi după răcire se completează până la 100 ml, prin spălarea reziduului cu acelaşi solvent (soluţia A).

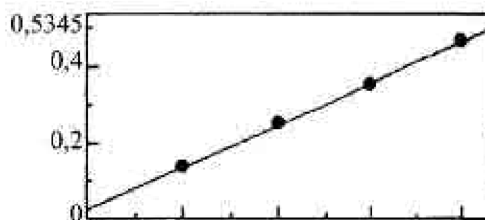
Într-un balon cotat de 25 ml se iau 10 ml din soluţie A şi se adaugă metanol până la cotă. Se agită timp de 2-3 minute şi se lasă în repaus pentru 10 minute. Se filtrează şi se îndepărtează primele porţiuni din filtrat. Într-un balon cotat de 25 ml (soluţia-probă), la 5 ml filtrat se adaugă 5 ml acetat de sodiu 100 g/l şi 3 ml $AlCl_3$ 25 g/l, se agită şi se completează cu metanol până la cotă. După 15 minute, dacă este cazul, se completează din nou cu metanol până la cotă, şi se determină absorbanţa soluţiei la 430 mm, folosind ca lichid de compensare o soluţie obţinută în aceleaşi condiţii cu soluţia-probă: la 5 ml filtrat, se adaugă 8 ml de apă şi se aduce cu metanol până la cotă, într-un balon cotat de 25 ml.

Concentraţia flavonoidelor în proba de analizat se calculează cu ajutorul unei curbe etalon, stabilite în paralel şi în aceleaşi condiţii cu soluţia-probă, luând în lucru: 1,0 ; 2,0 ; 3,0 şi 4,0 ml soluţie etalon de rutozidă 0,1 g/l în metanol, 5 ml acetat de sodiu 100 g/l, 3 ml clorură de aluminiu 25 g/l la 25 ml, în fiecare balon cotat; se foloseşte ca lichid de compensare o soluţie obţinută în aceleaşi condiţii cu soluţia-probă, din 8 ml apă şi metanol până la cotă, într-un balon cotat, de 25 ml.

Cu valorile absorbantelor şi cu concentraţiile corespunzătoare se trasează curba etalon, a cărei ecuaţie este:

$$y = 0{,}0269 + 1{,}0996\,x,$$

în care: y – absorbanţa probei (A,=430 nm), x – concentraţia corespunzătoare absorbanţei citite (mg/ml).



Cantitatea de flavonoide se poate calcula cu ajutorul formulei:

$$C = x \times 100 : \frac{a \times 10}{100} \times \frac{5}{25},$$

în care: *C* – cantitatea de flavonoide (mg/100 g produs vegetal), *a* – cantitatea de produs vegetal luat în lucru (g), *x* – concentrația corespunzătoare absorbanței citite.

3.15. Produse vegetale cu conținut de substanțe tanante

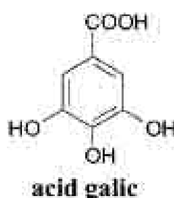
Definiție. Substanțe tanante se numesc compușii naturali care constau din polifenoli, flobafene, genetic legate între ele, indiferent dacă posedă proprietăți de tăbăcire a pielii sau nu.

Se caracterizează printr-o mare heterogenitate structurală. Unitățile constituente aparțin seriei acizilor polifenolcarboxilici sau seriei 2-fenilbenzopiranului.

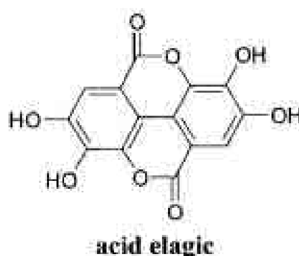
Clasificarea. Sunt cunoscute mai multe clasificări ale substanțelor tanante propuse de *Bercelius, Nichel, Prokter, Andreaș, Steinkauz.*

În prezent este unanim acceptată clasificarea propusă de K. Freundenberg:

1. *Substanțe tanante hidrolizabile*: a) galotaninuri – esterii acidului galic cu glucidele; b) esterii acizilor fenolcarbonici; c) elagotaninuri – esterii acidului elagic cu glucidele.



acid galic



acid elagic

2. *Substanțe tanante condensate*: a) derivații flavanolului 3; b) derivații flavandiolului – 3,4; c) derivații oxistilbenului. Substanțele tanante nehidrolizabile sunt produși de condensare a unor compuși de tipul 2-fenilbenopiranului (catechina).



catechină

3.15.1. Caractere macro- și microscopice

ALNI FRUCTUS – fructe de arin

Planta producătoare: ***Alnus glutinoza*** Gaerth. – arin-negru, ***A. incana*** Moench. – arin-alb

Fam. **Betulaceae**

Caractere macroscopice: fructe compuse, mature, solitare sau câte 3-5 pe o tulpină subțire care prezintă inflorescențe pistilate concrescute, lignificate – spice numite și „conuri". Fructele au o formă ovată sau oval-alungită și constau dintr-un pivot tare,

rugos şi o mulţime de solzi grosolani parţial desfăcuţi. Solzii au formă de evantai, cu marginea îngroşată, 5-6-lobată. În axila solzilor rămân uneori fructe cafenii, turtite, de tip nuciă, cu o aripă îngustă, pieloasă. Lungimea fructelor 15-20 mm, diametrul 8-10 mm; culoarea cafenie-închisă.

Mirosul slab, gustul astringent.

BISTORTAE RIZOMATA – rizomi de răculeţ

Plante producătoare: ***Polygonum bistorta*** L. – răculeţ; ***P. carneum*** C. Koch. – răculeţ-roşu

Fam. **Polygonaceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal constă din rizomi fără rădăcini, puţin turtiţi, recurbaţi în spirală (adesea bicurbaţi). Pe partea superioară îngroşări transversale sub formă de inele – urmele de fixare a frunzelor, pe cea inferioară nişte puncte negre – locul fixării rădăcinilor. Lungimea rizomilor între 3-5 şi 10 cm, lăţimea 1,5-3 cm. Suprafaţa exterioară a rizomilor cafenie-închisă, în fractură roz-cafenie. Fractura netedă. Cu lupa şi cu ochiul neînarmat se văd fascicule conducătoare de formă ovală, dispuse în formă de inel.

Gustul este puternic astringent, mirosul lipseşte.

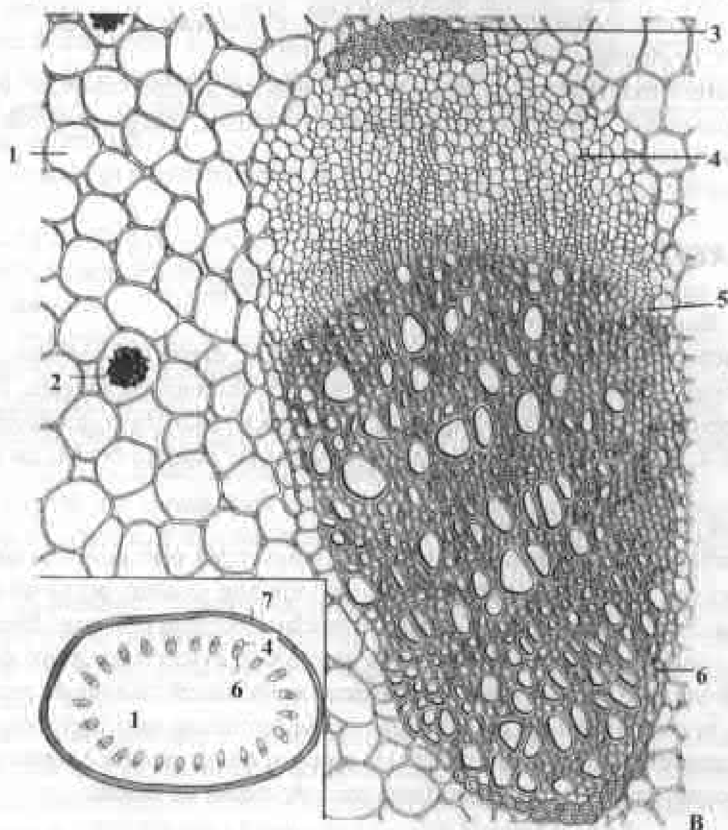


Fig. 123. **Rizom de răculeţ.** ***A*** **– schema secţiunii transversale (x10);** ***B*** **– fragment de secţiune transversală prin fasciculul conducător (x280).** *1* – celulele parenchimului fundamental; *2* – druze de oxalat de calciu; *3* – fibre mecanice; *4* – liber; *5* – cambiu; *6* – lemn; *7* – suber

Caractere microscopice: secţiune transversală prin rizom *(fig. 123)*. Rizomul este acoperit cu un strat foarte subţire de suber sub care se observă parenchimul fundamental în care fasciculele conducătoare formează un inel întrerupt (tip fasciculat de structură). În secţiune transversală fasciculele conducătoare au formă ovală. Se observă fascicule tăiate pieziş. Fasciculele sunt colaterale, deschise, cu liberul spre periferie, lemnul – spre centru. Liberul constă din celule mici cu pereţii subţiri – elementele conducătoare, şi celule mai mari ale parenchimului liberian. Linia cambiului este îngustă, dar bine vizibilă.

Lemnul se compune din trahei şi traheide înguste şi parenchim lemnos. La fasciculele conducătoare aderă de ambele părţi grupuri de fibre uşor îngroşate şi puţin lignificate. Celulele parenchimului fundamental sunt foarte mari, umplute cu amidon şi substanţe tanante (material fixat cu soluţie de bicromat de potasiu 5 %). Granulele de amidon sunt mici, simple, de formă ovală. Unele celule ale parenchimului conţin druze mari de oxalat de calciu. Celulele parenchimului au spaţii intercelulare mari, formând un ţesut spongios. În măduva rizomului aceste spaţii intercelulare sunt deosebit de mari.

CORYLI FOLIA – frunze de alun

Planta producătoare: ***Corylus avellana*** L., ***C. colurna*** L. – alun

Fam. **Corylaceae**

Caractere macroscopice: frunzele sunt peţiolate, alterne, lat-ovate, uneori obovate, mari, lungimea 8-12 cm, baza cordată, vârful acuminat, marginea dublă-serată, epiderma inferioară pubescentă.

Produs fără miros, gust astringent.

GEI RHIZOMATA – rizomi de cerenţel

Planta producătoare: ***Geum urbanum*** L. – cerenţel

Fam. **Rosaceae**

Caractere macroscopice: rizomi nedecorticaţi, drepţi sau recurbaţi, uneori tuberiformi, acoperiţi cu numeroase radicele subţiri, de dimensiuni inegale. Pe partea superioară se observă cicatricele tulpinilor şi bazele peţiolilor frunzelor bazilare. Grosimea limbului 1-1,5 cm, lungimea 5-7 cm. La exterior de culoare brună, iar la interior roz-brună.

Gustul astringent, mirosul slab aromat.

Caractere microscopice: pe secţiune transversală prin rizom se observă, la exterior, resturi din scoarţa primară, separată de celelalte ţesuturi printr-un endoderm pluristratificat. Scoarţa secundară dintr-un parenchim cortical obişnuit, liber secundar, delimitat de cambiu. În zona lemnului, spre exterior se evidenţiază grupe de vase de lemn incluse într-un parenchim lemnos nesclerificat ce alternează cu zone de parenchim lemnos fără vase. În zona profundă a lemnului, vasele lemnoase sunt înglobate într-un parenchim lemnos sclerificat, ce alternează cu porţiuni de parenchim lemnos nesclerificat. În toate parenchimurile sunt prezente druze mici de oxalat de calciu.

HAMAMELIIS FOLIA – frunze de nuc-vrăjitor

Planta producătoare: ***Hamamelis virginiana*** L. – nuc-vrăjitor

Fam. **Hamamelidaceae**

Caractere macroscopice: produs format din frunze scurt pețiolate, ovale sau romboidale, asimetrice la bază, subțiri, cu marginea dințată, nervațiunea penată. Lățimea 7-8 cm, lungimea 10-15 cm. Au culoare verde mată care în timp devine verde-brună sau brună-roșcată.

Mirosul lipsește, gustul astringent, amărui.

Caractere microscopice: în nervura mediană se distinge un fascicul conducător specific, alcătuit dintr-un fascicul libero-lemnos concentric, deasupra căruia se suprapune un al doilea fascicul colateral. Periciclul este sclerificat și însoțit de cristale prismatice de oxalat de calciu. Între cele 2 epiderme există zone mai mult sau mai puțin mari de colenchim. Mezofilul heterogen, asimetric și străbătut transversal de sclereide mari, de la o epidermă la alta. Țesutul palisadic este format dintr-un singur strat de celule.

MYRTILLI FOLIA – frunze de afin-de-munte

Planta producătoare: ***Vaccinium myrtillus*** L. – afin-de-munte

Fam. **Vacciniaceae**

Caractere macroscopice: sunt frunze cu lungimea de 10-28 mm, lățimea 8-18 mm, baza rotundă, uneori ușor cordiformă, pețiolul scurt, marginea fin-serată, suprafața glabră, lucitoare. Sunt subțiri, fragile, de culoare verde-deschisă sau verde-cafenie. La stereomicroscop pe dinți se observă glande ovale cu conținut cafeniu și piciorușul lung, care reprezintă prelungirea dintelui. Astfel de glande se întâlnesc și pe nervura principală a epidermei inferioare.

Miros foarfe slab, gust astringent-amărui.

MYRTILLI FRUCTUS – fructe de afin-de-munte

Planta producătoare: ***Vaccinium myrtillus*** L. – afin-de-munte

Fam. **Vacciniaceae.**

Caractere macroscopice: fructul este o bacă puternic deformată, după înmuiere capătă formă sferică cu vârful turtit, diametrul de până la 0,5 cm. La vârful bacei se observă restul caliciului în formă de inel regulat. Este mată sau slab lucitoare, de culoare neagră, cu nuanță brună-roșiatică; miezul – violet-roșiatic. Conține numeroase semințe (circa 30-35), mici, ovate, cafenii-deschise, reticulare.

Produsul vegetal are miros slab; gust plăcut, acriu-dulceag, ușor astringent; la mestecare saliva se colorează în roșu-închis, iar mucoasa cavității bucale și dinții – în albastru-violet.

Impurificări posibile: *Gonobobeli* afin-de-mlaștină (*Vaccinium uliginosum* L.). Bacele sunt ovale (după înmuiere), mari (circa 7 mm în diametru), negre-albastre sau albăstrui; miezul verde, mucoasa cavității bucale nu se colorează. Coacăz-negru (*Ribes nigrum* L.). (vezi p. 206)

Impurificări inadmisibile. Soc-negru (*Sambucus nigra* L.) și boz (S. *ebulus* L.). Fructe mici (circa 6 mm în diametru), drupe sferice, strălucitoare, de culoare neagră-violetă. În miezul roșu-brun se află 2-4 semințe alungite, cafenii. Verigariu (*Rhamnus cathartica* L.) (vezi p. 130). Crușin (*Frangula alnus* Mill) (vezi p. 127).

PRUNI PADI FRUCTUS – fructe de mălin

Planta producătoare: ***Padus racemosa*** Gilib (syn. *Prunus padus* L.) – mălin

Fam. **Rosaceae**

Caractere macroscopice: fructe sferice sau alungite, de circa 8 mm în diametru, zbârcite, cu o cicatrice albă, rotundă, în locul căderii pedunculului. Suprafața neagră sau neagră-cenușie, adesea cu o depunere albă de zahăr (mai ales la păstrarea îndelungată). Sâmburele e mare, foarte dur, sferic, cafeniu-deschis, cu o singură sământă.

Gustul fructelor acru-dulceag, puternic astringent.

QUERCUS CORTEX – scoarță de stejar

Plante producătoare: ***Quercus robur*** L. (syn. **Q. *pedunculata*** Ehrh.) – stejar, **Q. *petraea*** **Liebl.** (syn. **Q. *sessiliflora*** Salisb.) – gorun

Fam. **Fagaceae**

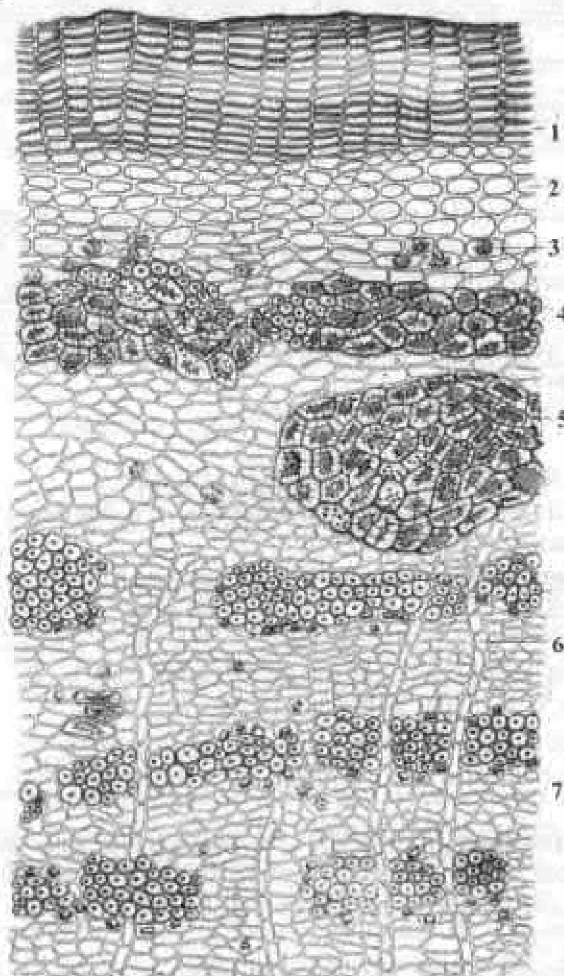


Fig. 124. **Secțiune transversală prin scoarța de stejar (x120):** *1* – suber; *2* – colenchim; *3* – druze de oxalat de calciu; *4* – zona mecanică; *5* – celule sclerificate; *6* – fibre liberiene cu teacă cristaligenă; *7* – zona medulară

Caractere macroscopice: scoarță în formă de bucăți netede sau striate, de diferite lungimi și lățimi, cu grosimea de 2-3 mm. Suprafața externă lucitoare sau mată, netedă sau puțin zbârcită cu lenticele transversal alungite, brună-cenușie sau argintie,

Suprafaţa internă brună-deschisă, cu coaste longitudinale; unele coaste puternic proeminente corespund razelor medulare formate din mai multe rânduri de celule. Fractura scoarţei la exterior regulată sau granuloasă, în interior ghimpoasă, puternic fibroasă. Scoarţa uscată nu are miros, la înmuierea în apă apare un miros specific, gustul astringent, amărui.

Caractere microscopice: pe secţiunea transversală a scoarţei *(fig. 124)* se observă suberul cafeniu din mai multe rânduri de celule, câteva rânduri de colenchim, după care se află zona mecanică alcătuită din grupuri de fibre ce alternează cu grupuri de celule sclerificate. În scoarţa ramurilor tinere (grosimea sub 2 mm), zona mecanică, în unele locuri, este întreruptă de parenchim. În scoarţa cu grosimea de 3-4 mm zona mecanică este neîntreruptă. În scoarţa bătrână (urme de ritidom) zona mecanică lipseşte: la formarea straturilor secundare ale suberului şi dezvoltarea ritidomului ea nimereşte în zona ţesuturilor moarte. Scoarţa secundară este bogată în elemente mecanice (preparat colorat cu floroglucină şi acid clorhidric concentrat).

Grupurile de fibre liberiene, formează zone concentrice întretăiate de 1-2 rânduri înguste (uneori mai late) de raze medulare din fibre cu teacă cristaligenă. Celulele sclerificate sunt dispuse aici în grupuri mari. În scoarţa bătrână sclereidele sunt mai numeroase şi concresc puternic în raze medulare largi, care formează coaste dense, proeminente pe partea internă a scoarţei. Parenchimul fundamental al scoarţei conţine druze de oxalat de calciu, incluziuni cafenii – flobafene (produse de condensare a substanţelor tanante), deosebit de numeroase în scoarţa bătrână.

Impurificări posibile. Scoarţa de frasin – *Fraxinus excelsior* L. Suprafaţa externă a scoarţei de frasin e cenuşie, mată. La microscop se vede zona mecanică, în care predomină grupuri de fibre. În scoarţa interioară elementele mecanice sunt într-un număr mai mic, fibrele nu au înveliş cristaligen.

SANGUISORBAE RHIZOMATA ET RADICES – rizomi şi rădăcini de sorbestrea

Planta producătoare: ***Sanguisorba officinalis*** L. – sorbestrea

Fam. **Rosaceae**

Caractere macroscopice: rizomi întregi sau tăiaţi în bucăţi, lignificaţi cu lungimea de circa 12 cm, diametrul 1,5-2 cm. De la rizom pornesc câteva rădăcini cu diametrul sub 1 cm şi lungimea de circa 20 cm. Produsul vegetal poate conţine şi rădăcini separate. Culoarea rădăcinilor şi rizomilor cafenie-închisă, aproape neagră, suprafaţa uşor zbârcită longitudinal. Culoarea în fractură galbenă-cafenie; caracterul fracturii la rizomi este neuniform, rugos, la rădăcini mai uniform.

Gustul astringent, mirosul lipseşte.

Caractere microscopice: secţiune transversală prin rădăcină *(fig. 125)*. La exterior, rădăcina este acoperită cu un strat de suber din celule foarte mici. Scoarţa este poroasă. Inelul cambiului bine conturat. Elementele conducătoare ale liberului şi lemnului dispuse în porţiuni radiale separate, între care se află parenchimul. Aşezarea vaselor este foarte caracteristică – formează porţiuni în formă de triunghi, cu baza spre cambiu, iar cu vârful alungit înspre centru. Razele medulare sunt înguste, dispuse într-un rând, în partea exterioară a scoarţei adesea recurbate.

Elementele mecanice ale rădăcinii le constituie fibrele liberiene şi libriformul. Fibrele liberiene au membrană uşor îngroşată şi nelignificată, pot fi solitare sau în grupuri a câte 2-3. Libriformul este dezvoltat neuniform, lipsă în rădăcini. În multe

cazuri formează porțiuni foarte mari, cu aspect de inel întrerupt. Fibrele libriformului au membrane îngroșate, lignificate, străbătute de pori (colorare cu fluoroglucină și acid clorhidric concentrat). Celulele parenchimului scoarței și lemnului conțin druze de oxalat de calciu și amidon. Granulele de amidon sunt ovale sau rotunde, simple, uneori compuse, diametrul de 5-7 µm.

Rizomul se deosebește de rădăcină prin prezența în centrul măduvei, care uneori este parțial distrusă (prezentă cavitatea). În lemn sunt dispuse porțiuni mari de libriform.

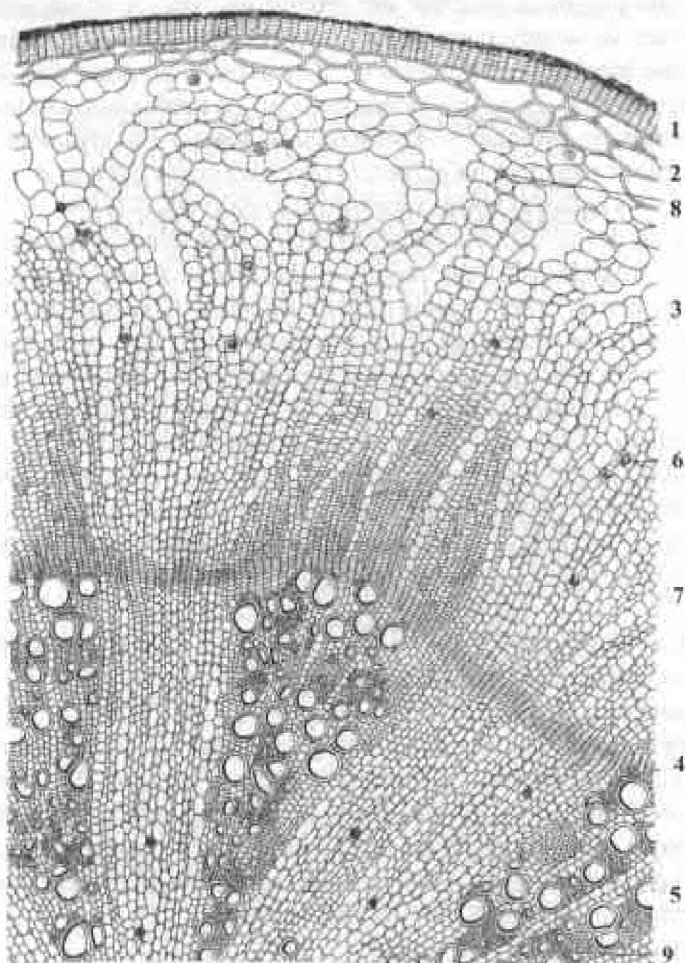


***Fig. 125.* Secțiune transversală prin rădăcina de sorbestrea (x120):** *1* – suber; *2* – feloderm; *3* – scoarță; *4* – cambiu; *5* – lemn; *6* – druze de oxalat de calciu; *7* – raze medulare; *8* – fibre liberiene; *9* – libriform

TORMENTILLAE RHIZOMATA – rizomi de sclipeți

Planta producătoare: ***Potentilla erecta*** (L.) *Hampe* (syn. ***P. tormentilla*** Neck) – sclipeți (scrântitoare)

Fam. **Rosaceae**

Caractere macroscopice: rizomi multicapitați, strâmbi, de formă neregulată, fusiformi, cu noduri rotunde, mai rar alungiți, cilindrici, drepți sau puțin recurbați, tari,

lignificaţi. Suprafaţa neregulată, cu cicatrice tuberoase de la resturile tulpinilor şi urme ale rădăcinilor sub formă de gropiţe. Fractura brută, neregulată, granuloasă. Lungimea 3-7 cm, diametrul 1-3 cm. Culoarea la exterior cafenie-închisă, în fractură – roşiatică sau brună-roşiatică.

Gustul puternic astringent, fără miros.

3.15.2. Analiza chimică

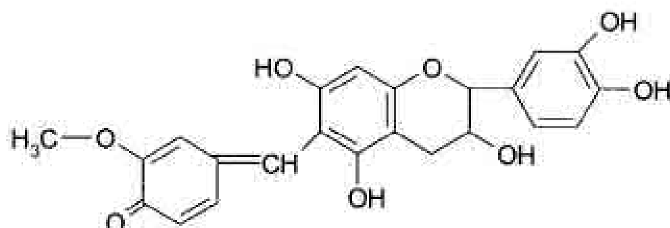
Proprietăţi fizico-chimice. Substanţele tanante au masa moleculară medie 1000-5000 (până la 20000) şi reprezintă, de obicei, nişte compuşi amorfi ce formează la dizolvarea în apă soluţii coloidale. Dintre solvenţii organici, substanţele tanante se dizolvă în acetonă, alcool etilic, amestec din alcool etilic şi eter etilic, parţial în eter etilic, acetat de etil, piridină; nu se dizolvă în cloroform, eter de petrol, benzen şi sulfura de carbon. Multe substanţe tanante sunt optic active, posedă gust astringent, uşor se oxidează la aer, căpătând o culoare mai mult sau mai puţin întunecată.

Catechinele sunt substanţe cristaline incolore, se dizolvă bine în apă şi în solvenţi organici (alcool, acetonă), se oxidează uşor la încălzire şi la lumină, în mediul bazic şi sub acţiunea fermenţilor de oxidare (polifenoloxidaza, peroxidaza).

Molecula catechinei conţine doi atomi de carbon asimetrici (C_2 şi C_3) şi de aceea fiecare catechină poate fi prezentată sub formă de 4 izomeri şi de 2 racemate. În funcţie de configuraţia ciclului B şi grupei hidroxilice la atomul C_3, se deosebesc (±)-catechine şi (±)-epicatechine. În plante catechinele se află în forme izomere ce corespund (+)-catechinei şi (-)-epicatechinei. Spectrului ultraviolet al catechinelor îi este caracteristic maximul de absorbţie în regiunea 270-280 nm.

Leucoantocianii sunt substanţe amorfe incolore ce se oxidează mai uşor decât catechinele. Ele se dizolvă în apă, alcool metilic, acetonă, mai rău în acetat de etil, nu se dizolvă în eter etilic. Leucoantocianii au trei atomi de carbon asimetrici (C_2, C_3, C_4) şi de aceea fiecare leucoantocian poate fi reprezentat sub formă de 8 izomeri şi 4 racemate. Spectrul ultraviolet al leucoantocianilor au maximul de absorbţie în regiunea 270-280 nm. La încălzirea cu acizi diluaţi, leucoantocianii se transformă în antociani coloraţi.

Substanţele tanante, ca şi alţi compuşi fenolici, formează cu sărurile metalelor grele complexe colorate. Substanţele tanante, condensate cu soluţia de alaun de fier şi amoniu, dau culoare neagră-verzuie, iar cele hidrolizabile – neagră-albastră. Pentru substanţele tanante este caracteristică reacţia de asociere cu diazocompuşii, formând produse colorate, şi reacţia cu vanilină (în prezenţa HCl concentrat sau H_2SO_4 de 70 % apare o culoare roşie-aprinsă). În această reacţie, catechinele formează un produs colorat cu următoarea structură:



Adăugând la acidul elagic liber câteva cristale de nitrit de sodiu și 3-4 picături de acid acetic, apare culoarea roșie-violetă. Pentru a descoperi acidul elagic legat (sau hexaoxidifenic), acidul acetic este înlocuit cu acidul sulfuric sau clorhidric de 0,1 N (culoarea roșie-cărămizie ce trece în albastră).

Izolare. Substanțele tanante sunt amestecuri de polifenoli diferiți, cu o structură compusă, foarte labili, de aceea izolarea și studierea componenților individuali prezintă mari dificultăți.

La izolarea din produsul vegetal se obțin fracții de substanțe tanante. În acest scop se folosește extragerea din produsul vegetal cu soluții (solvenți) organice: produsul vegetal este tratat cu eter de petrol sau cu un amestec din benzen și cloroform (1:1) pentru a fi înlăturată o mare parte de clorofilă, terpenoide și lipide, apoi extragerea se efectuează cu eter etilic, se izolează unii compuși fenolici, inclusiv acidul oxicinamic și catechinele. Extragerea se continuă cu eter acetic, în extract trecând leucoantocianele, proantocianidinele dimere, eterii acizilor oxicinamici etc. În încheiere, produsul vegetal este supus extragerii cu alcool metilic sau etilic, în soluție trecând multe substanțe tanante și alți compuși fenolici.

Pentru a obține acest total de substanțe se folosesc și alte metode: la început produsul vegetal e supus extragerii cu apă fierbinte, apoi extractul apos răcit se tratează cu solvenții numiți mai sus.

Este răspândită izolarea compușilor fenolici și a unor componente ale substanțelor tanante prin sedimentarea cu săruri de plumb din soluțiile apoase și alcool-apoase. Precipitatul obținut este tratat cu H_2SO_4 diluat. Extractele substanțelor tanante sumare se separă în componente individuale cu ajutorul metodelor cromatografice.

Pentru separarea componentelor individuale de substanțe tanante (catechine, leucoantocianidine) se aplică diferite metode cromatografice: 1) cromatografia absorbentă în coloană cu celuloză, poliamidă (poliamida poate fi înlocuită cu pulbere de bovine); 2) cromatografia cu schimb de ioni – în coloană cu cationul Dauex-50-B în formă de H^+; 3) cromatografia de repartiție în coloana cu silicagel; 4) distribuirea contracurentului; 5) filtrare în gel în coloane Sefadex G-50; G-100 etc.

Identificarea componentelor individuale ale substanțelor tanante se bazează pe metodele cromatografice (cromatografia pe hârtie și în straturi subțiri), pe cercetările spectrelor, pe reacțiile calitative și studierea produselor de scindare.

Cromatogramele substanțelor tanante se examinează la lumina ultravioletă și se notează caracterul fluorescenței zonei de absorbție. Unii derivați ai catechinei au fluorescență de culoare albastră-deschisă ce se identifică după tratarea cromatogramei cu vapori de amoniu.

Deseori, pentru a descoperi catechinele, leucoantocianidinele și derivații lor pe cromatogramă, se folosește vanilină 1 % în HCl concentrat. Leucoantocianidinele se pot deosebi de catechine dacă cromatograma este ținută în vapori de HCl, pe urmă încălzită 2 minute la 105 °C, apoi leucoantocianidinele trec în antocianidine (culoarea roză, roșie-violetă), iar catechinele rămân incolore sau se îngălbenesc.

Pentru identificarea mai detaliată a substanțelor se folosesc, de asemenea, metodele spectroscopiei UV, IR și RMP. Pentru studierea substanțelor tanante se folosește pe larg hidroliza (mai ales cea fermentativă cu ajutorul tanazei), disocierea bazică, iar mai apoi studierea produselor obținute.

Determinarea calitativă

În produsul vegetal substanțele tanante se identifică cu ajutorul a 2 grupuri de reacții calitative: de sedimentare și de culoare. Pentru a efectua reacțiile calitative, din produsul vegetal se pregătește un extract apos.

Pregătirea extractului. La 1 g de produs vegetal mărunțit se adaugă 100 ml de apă. Se încălzește la baia de apă 20-30 minute, se strecoară prin vată, iar extractul obținut se folosește la efectuarea reacțiilor calitative.

1. La 2-3 ml de extract se adaugă, cu picătura, soluție de gelatină 1 %. Apare opalescență ce dispare la adăugarea excesului de gelatină.
2. La 2-3 ml de extract se adaugă câteva picături de clorhidrat de chinină (antipirină), 1 %. Apare un precipitat amorf.
3. La 2-3 ml de extract se adaugă 4-5 picături de soluție de alaun de fier și amoniu. În cazul substanțelor tanante hidrolizabile apare culoare sau precipitat negru-albastru, iar în prezența celor condensate – precipitat negru-verziu (această reacție se folosește la identificarea substanțelor tanante în produsul vegetal).
4. La 10 ml de extract se adaugă 5 ml de amestec (2 ml de HCl diluat în proporție 1:1 și 3 ml de soluție de aldehidă formică 40 %). Amestecul obținut se fierbe 30 minute în balonul unit cu refrigerentul ascendent. Dacă în produsul vegetal se află substanțe tanante condensate, ele cad în precipitat. Precipitatul se filtrează. La 2 ml de filtrat se adaugă 10 picături de soluție de alaun de fier și amoniu 1 % și 0,2 g acetat de plumb cristalin, soluția se amestecă. Dacă se găsesc substanțe tanante hidrolizabile, apare culoarea albastră sau violetă (în mediu neutru).
5. La 2-3 ml de extract se adaugă în picături apă de brom (5 g de brom la un litru apă), până la momentul când în soluție se va simți miros de brom. În prezența substanțelor tanante condensate se formează precipitat.
6. La 1 ml de extract se adaugă 2 ml de acid acetic 10 % și 1 ml de sare mijlocie a acetatului de plumb 10 % – substanțele tanante hidrolizabile formează precipitat. La prezența substanțelor tanante condensate filtratul se va colora în negru-verziu la adăugarea a 5 picături de soluție de alăuni de fier de 1 % și 0,1 g acetat de plumb.
7. La 2 ml de extract se adaugă câteva cristale de $NaNO_2$ și 2 picături de HCl 0,1 N. În prezența substanțelor tanante hiidrolizabile apare culoarea cafenie.

Determinarea cromatografică a catechinelor în frunze de ceai. Se iau 0,1 g de produs vegetal mărunțit (frunze de ceai), se adaugă 2 ml de alcool etilic 95 % și se încălzește la baia de apă până la fierbere. Amestecul se răcește, se filtrează. Extractul alcoolic obținut se aplică cu ajutorul unui capilar pe linia de start a plăcii cromatografice (înălțimea coloanei de soluție în capilare e de 1,5-2 cm; diametrul petelor pe linia de start nu mai mare de 5 mm). Alături de extractul examinat, pe linia de start, se aplică, în calitate de soluție de referință, soluția curățată a totalului de catechine din frunzele de ceai.

După uscare, placa se instalează în camera de cromatografiere cu sistemul de solvenți n-butanol-acid acetic-apă (40:12:28).

Cromatografierea se efectuează timp de 1,5 ore (distanța parcursă de solvent e de 10-12 cm). Ulterior cromatograma se usucă la aer și se tratează cu soluție de vanilină 1 % în HCl concentrat.

Catechinele apar sub formă de spoturi roșii, portocalii.

Determinarea cantitativă

În literatura științifică sunt descrise cca 100 metode de determinare cantitativă a substanțelor tanante care pot fi împărțite în următoarele grupe:

1. *Gravimetrice* – bazate pe sedimentarea cantitativă a substanțelor tanante cu ajutorul gelatinei, ionilor metalelor grele sau pe absorbția cu pulbere de bovine.
2. *Titrimetrice* – folosesc reacțiile de oxidare, mai întâi de toate cu folosirea permanganatului de potasiu (metoda farmacopeecă).
3. *Fotocolorimetrice* – utilizează reacțiile cu sărurile oxidului de fier, cu acidul fosfowolframic, cu reactivul *Folin-Denis* etc.
4. *Metode nefelometrice*, cromatospectrofotometrice se folosesc la cercetări.

În multe țări, în calitate de etalon pentru scopurile tehnice servește metoda gravimetrică cu folosirea pulberei de bovine (metodă gravimetrică unificată).

În FS XI intră metoda titrimetrică Levental în modificarea lui *A. L. Kursanov*, bazată pe proprietatea substanțelor tanante de a fi oxidate rapid de permanganatul de potasiu.

Pentru determinarea cantitativă a taninului în frunzele de scumpie și oțetar este propusă metoda de sedimentare a substanțelor cu sulfat de zinc cu titrarea complexonometrică ulterioară.

Pentru determinarea cantitativă a catechinelor în frunzele de ceai, *M. N. Zaprometov* a elaborat metoda fotocolorimetrică cu folosirea cromatografiei pe hârtie pentru a separa catechinele și reacția catechinelor cu vanilina 1 % în HCl concentrat, în urma căreia soluția se colorează.

Metoda determinării cantitative a substanțelor tanante. Aproximativ 2 g (probă exactă) de produs vegetal mărunțit, trecut prin sita cu orificiile 3 mm, se pun într-un balon conic de 100 ml, se toarnă 50 ml de apă clocotindă și se încălzește la baia de apă 30 minute agitând.

Soluția se lasă câteva minute să se limpezească, după care și se strecoară atent prin vată într-un balon cotat de 250 ml astfel ca particulele de produs vegetal să nu cadă pe vată. Produsul vegetal din balon este supus procedurii, descrise mai sus, iar soluția se strecoară în același balon cotat. Extragerea se repetă de câteva ori, până reacția la substanțele tanante va fi negativă (reacția cu soluție de alaun de fier și amoniu).

Soluția din balonul cotat se răcește și se aduce cu apă până la cotă. 250 ml de soluție se toarnă într-un balon conic de un litru, se adaugă 750 ml de apă și 25 ml de soluție de acid indigosulfonic și se titrează cu permanganat de potasiu de 0,1 N până la culoare galbenă-aurie, agitând permanent.

1 ml soluție permanganat de potasiu 0,1 N corespunde 0,004157 g de substanțe tanante calculate pentru tanin.

Paralel se efectuează proba de control, titrând 25 ml de acid indigosulfonic în 750 ml de apă.

Cantitatea procentuală a substanțelor tanante se calculează după formula:

$$x = \frac{(V_1 - V_2)K \times D \times V \times 100 \times 100}{m \times V_3(100 - \omega)},$$

în care: V_1 – volumul $KMnO_4$ 0,1 N cheltuit la titrare, ml; V_2 – volumul de $KMnO_4$ de 0,1 N cheltuit la titrarea probei de control, ml; K – corecția la titru (după acidul oxalic); D – coeficientul de calculare pentru tanin: pentru substanțele tanante hidrolizabile este 0,004157; pentru cele condensate – 0,00582; V – volumul total al extractului, ml; m – masa exactă a produsului vegetal g; V_3 – volumul extractului luat pentru titrare, ml; ω – pierderea din masa produsului vegetal la uscare, %.

Determinarea cantitativă a substanțelor tanante în frunze de scumpie și oțetar. Cca 1 g de produs vegetal mărunțit și trecut prin sită cu orificiile de 1 mm, se cântărește cu exactitate de 0,0002 g, se plasează într-un balon cu fund plat de 150-250 ml, se adaugă alcool etilic 30 %, balonul se unește cu un refrigerent ascendent cu apă și se încălzește 30 minute pe baia de apă, spălând periodic particulele de produs vegetal de pe pereții vasului, agitând amestecul.

Amestecul se lasă 10-15 minute să se limpezească, apoi se filtrează folosind un filtru de sticlă, într-un balon cotat de 200 ml. Extragerea se repetă prin metoda descrisă mai sus, în prealabil spălând cu alcool etilic 30 % particulele de produs vegetal de pe filtru. După răcirea extractului obținut se adaugă alcool etilic 30 % până la cotă, 10 ml de extract se trec într-o eprubeta pentru centrifugare cu capacitatea de 25-50 ml și se adaugă 10 ml de reactiv pentru sedimentare.

Soluția se amestecă cu o baghetă care se spală cu 5 ml de apă distilată, ce se adaugă la soluție. Peste 30 minute amestecul este supus centrifugării 5-10 minute cu frecvența de 5-6 mii rotații/minut, lichidul de pe sediment se varsă, iar precipitatul din eprubetă se amestecă cu 20 ml soluție de amoniac 0,25 % cu o baghetă care apoi se spală cu soluție de aceeași concentrație și se adaugă la amestecul centrifugat. După centrifugare lichidul de la spălare se aruncă. Precipitatul din eprubetă se dizolvă în 3 ml de acid acetic 30 %. Soluția cantitativ se trece într-un balon de 250 ml cu ajutorul a 80-100 ml de apă distilată. Soluția se neutralizează cu 25 ml de hidrocarbonat de sodiu 5 %, se adaugă 0,5 ml de xilinol portocaliu și se titrează cu soluția de trilon B 0,01 M până la schimbarea culorii roșii-violete în galbenă.

1 ml de soluție de trilon B 0,01 M corespunde la 0,0013 de tanin. Cantitatea procentuală a taninului (x) calculată pentru produsul vegetal absolut uscat se află după formula:

$$x = \frac{V \times K \times 0{,}00130 \times 200 \times 100 \times 100}{m \times 10(100 - \omega)},$$

în care: V – volumul trilonului B, ml; K – corecția la titru; m – masa exactă a produsului vegetal, g; ω – pierderea din masa produsului vegetal la uscare, %.

3.16. Produse vegetale cu conținut de diverse principii active

3.16.1. Caractere macro- și microscopice

EUCOMMIAE CORTEX – scoarță de eucomie

Planta producătoare: ***Eucommia ulmoides*** Oliv. – eucomie (arbore de gutapercă)

Fam. **Eucommiaceae**

Caractere macroscopice: produs vegetal din fragmente de scoarță de pe lăstari, ramuri și tulpini. Scoarța tânără are aspect de tuburi, bucăți ondulate și fâșii înguste, subțiri, adesea răsucite, ca rezultat al ruperii sau alungirii filamentelor de gutapercă. Suprafața externă este netedă sau cu asperități, cafenie-deschisă sau verde-cenușie; lenticele alungite. Suprafața internă a scoarței netedă, cafenie-deschisă. Scoarța matură – sub formă de bucăți groase, ondulate sau plăci aproape netede. Suprafața externă cafenie-cenușie, zbârcită, cu fisuri transversale, lenticelele ovale sau rotunde, slab exprimate. Suprafața internă netedă, cafenie. Fractura scoarței granuloasă; pe locul fracturii se observă filamente de gutapercă albe-argintii, elastice. Grosimea scoarței lăstarilor – 0,5-1,5 mm, ramurilor – 2-2,5 mm, tulpinilor – 3-5 mm.

Miros specific, gust dulciu, slab astringent.

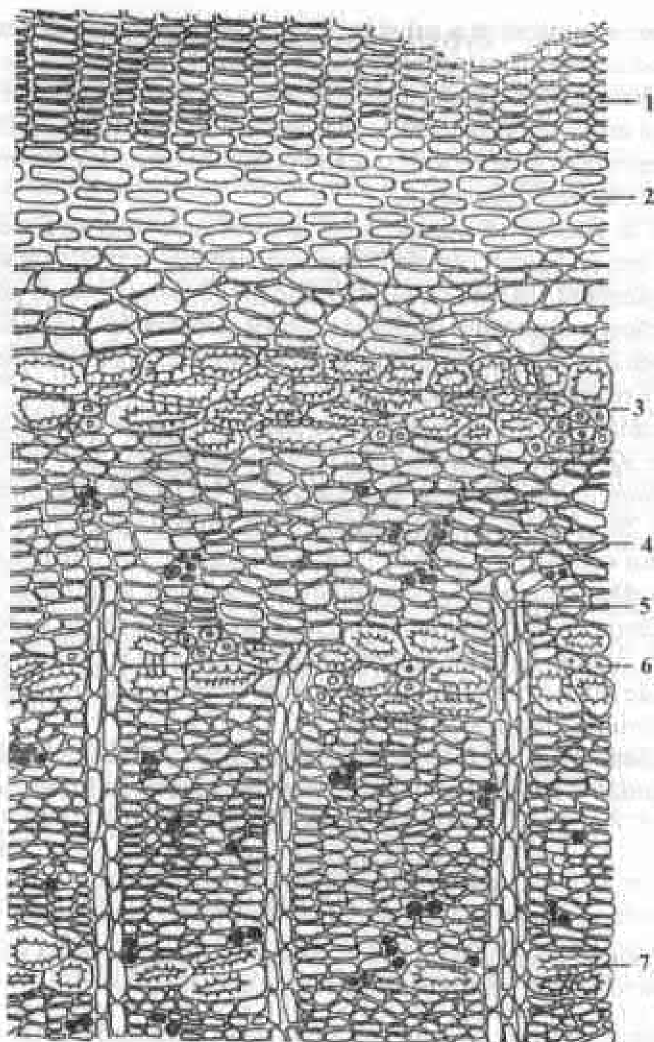


***Fig. 126.* Secţiune transversală prin scoarţa de eucomie (x120):** *1* – suber; *2* – colenchim; *3* – zonă mecanică; *4* – laticifere; *5* – rază medulară; *6* – fibre liberiene; *7* – celule sclerificate

Caractere microscopice: secţiune transversală prin scoarţa ramurilor *(fig. 126)*. Suberul e format din mai multe rânduri de celule, urmat de colenchimul pelicular; în scoarţa lăstarilor – slab exprimat, în scoarţa matură – compresat, cu structură deformată, adesea lipseşte. Parenchimul scoarţei primare este format dintr-un rând de celule ovale sau unghiulare, uneori turtite şi deformate. Ţesutul mecanic formează în scoarţă zone continue sau întrerupte din celule sclerificate şi fibre liberiene. Numărul acestor zone se măreşte cu vârsta: în scoarţa lăstarilor – 1-3, în scoarţa ramurilor – 4-5, iar în scoarţa matură a tulpinilor – circa 7. În scoarţa secundară ţesutul mecanic este format din celule sclerificate, iar fibre liberiene sunt puţine. Sclereidele au forme diverse (preparat după macerare *(fig. 108)*: scurte, în formă de evantai, ţigară cu vârfurile ascuţite sau tocite. Fibrele liberiene sunt lungi, cu membrană puternic îngroşată şi cavitatea

îngustă. Caracterul diagnostic principal al scoarței sunt laticiferele, numite canale de gutapercă. În secțiune transversală sunt rotunde sau ovale, pereții subțiri, dispuse în grupuri mici. În preparatele după macerare laticiferele au formă de tuburi lungi, subțiri, cu vârfurile rotunjite sau umflate, iar conținutul incolor, granulos, refractă puternic lumina. Conținutul laticiferelor se colorează în portocaliu cu soluție de sudan III.

FUNGUS – iască

Planta producătoare: ***Inonotus obliquus*** (Pers.) Pilat. (syn. ***Fungusbetulinus***) – iască (ciupercă-de-mesteacăn)

Fam. **Polyporaceae**

Clasa *Basidiomycetes*

Caractere macroscopice: se colectează excrescența de iască, care se dezvoltă pe tulpini vii de mesteacăn. Produsul vegetal constă din bucăți de diferite dimensiuni, fără formă, dense, obținute în urma tăierii excrescențelor mari. Pe secțiunea transversală a bucăților se observă trei straturi: exterior – negru, cafeniu-întunecat, fisurat, cu suprafața neregulată, verucoasă; mijlociu – masa principală a ciupercii, culoarea deschisă, foarte tare, care nu se zgârie cu unghia, în fractură granuloasă; intern – poros, cafeniu-deschis, străbătut de nervuri mici, gălbui. La baza excrescenței se află straturi deformate ale substratului. Aici țesutul ciupercii se amestecă treptat cu particulele deformate ale lemnului mesteacănului. Această parte lipsește, de obicei, în produsul vegetal, fiind înlăturată cu bucățile de scoarță și lemn.

Impurificările de alte ciuperci parazite pe copaci se determină ușor. Cel mai des se întâlnește iasca falsă – corpul fructifer are formă de copită sau pastilă, partea superioară conexă cu excrescențe inelare, inferioară – netedă. Suprafața catifelată, cafenie-cenușie.

LEUZEAE RHIZOMATA CUM RADICIBUS – rizomi cu rădăcini de leuzee

Planta producătoare: ***Rhaponticum carthamoides*** (Willd). Iljin. (syn. ***Leuzea carthamoides*** D. C.) – leuzee (stege-turcească)

Fam. **Asteraceae**

Caractere macroscopice: rizomii de la plantele cultivate sunt aproape verticali, multicapitați, ramificați; de la cele spontane – orizontali, cilindrici, mai mult sau mai puțin îndoiți, regulat îngroșați. Rizomii sunt lignificați; cu resturi de tulpini cu măduvă poroasă. Ramurile sau lăstarii rizomilor sunt scurți, lipiți de rizomi, verucoși cu striuri longitudinale fine sau cu zbârcituri. De la scoarță pleacă numeroase rădăcini subțiri, netede sau fin striate, unele fără scoarță. Fractura rădăcinilor la exterior dreaptă, în interior cu așchii. Dimensiunile rizomilor la plantele cultivate ating 4-6 (8) cm în lungime, se întâlnesc și exemplare cu lungimea 10-20 cm și diametrul de 1-2 cm; rădăcinile au lungimea de 15-36 cm și diametrul de 1-3 mm. Dimensiunile produsului vegetal obținut de la plantele spontane sunt mai mici. Culoarea la suprafață cafenie-închisă, aproape neagră, în fractură galbenă-pală.

Miros slab, aromat (la păstrare dispare), gustul dulceag, rășinos.

Caractere microscopice: pentru pregătirea preparatului se iau rădăcini de diferită grosime, cele foarte subțiri se taie cu tot cu suber. Pe secțiunea transversală a rădăcinilor *(fig. 127)* se observă o fâșie lată a scoarței primare. Epiderma constă dintr-un singur strat. Celulele endodermului tangențial alungite, îngroșate; în apropierea endodermului

pungi secretoare cu aspect de zonă întreruptă, din 4-5 celule secretoare mari, în care se observă picături mici de conţinut răşinos (reacţionează cu sudan III).

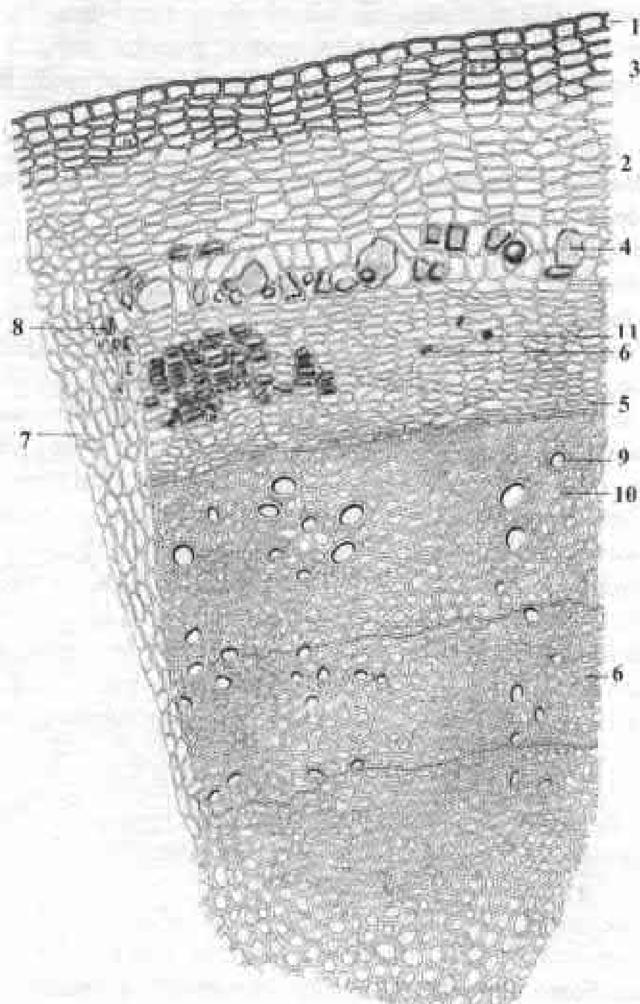


Fig. 127. **Schema secţiunii transversale prin rădăcina de leuzee:** (x200): *1* – epidermă; *2* – scoarţă; *3* – endoderm; *4* – pungi secretoare; *5* – cambiu; *6* – lemn; *7* – rază medulară; liber; *8* – celule cu inulină; *9* – vase lemnoase; *10* – libriform; *11* – cristale de oxalat de calciu

Structura rădăcinii, în funcţie de grosime, este diferită. Rădăcinile cu diametrul de 1-2 mm au structură primară, la cele cu diametrul de 3-4 mm structura trece în secundară, cambiul dezvoltat. Celulele parenchimului liberian conţin inulină, rar se întâlnesc cristale prismatice solitare sau druze de oxalat de calciu. Lemnul constă din numeroase fibre îngroşate, lignificate (libriform) şi dintr-un număr nu prea mare de trahei şi traheide. Secţiunea rizomului scoate în evidenţă prezenţa în scoarţă a unor grupuri nu prea mari de celule sclerificate, pungi secretoare mari cu conţinut portocaliu. Vasele lemnoase mari; parenchimul conţine inulină şi druze de oxalat de calciu.

RUBI IDAEI FRUCTUS – fructe de zmeur

Planta producătoare: ***Rubus idaeus*** L. – zmeur

Fam. **Rosaceae**

Caractere macroscopice: fructe multiple de tip polidrupă de formă semisferică, elipsoidală cu cavitate conică, diametrul 8-12 cm, din 20-60 drupe sferice sau elipsoidale, zbârcite, endocarpul tare cu o singură sământă. Culoarea produsului vegetal roşie-cenuşie (zmeurie).

Miros specific plăcut şi gust dulce-acriu.

ÎNTREBĂRI TIPICE PENTRU FIŞELE DE EVALUARE A CUNOŞTINŢELOR

Subiecte generale

1. Ce include analiza farmacognostică a produsului vegetal?
2. Determinarea identităţii produselor vegetale.
3. Denumirea în limba latină a produsului vegetal, plantei producătoare şi familiei.
4. Descrierea botanică a plantei producătoare.
5. Particularitaţile morfologice principale ale familiei.
6. Caractere macroscopice ale produselor vegetale (tulpini, frunze, fructe, seminţe, rădăcini, rizomi, tuberculi, bulbi).
7. Pregătirea materialului pentru examenul microscopic.
8. Lichide de includere
9. Procedee şi aparate de analiză microscopică a produsului vegetal.
10. Caractere anatomice principale ale structurii diferitor organe ale plantei (rizom, rădăcină, scoarţă, frunză, floare, fruct, sământă etc).
11. Caractere microscopice ale produsului vegetal.
12. Caractere microscopice specifice familiilor (reprezentanţi tipici).
13. Tehnica de aplicare a reacţiilor chimice.
14. Reacţiile chimice de idenitificare a principiilor active în produsul vegetal.
15. Localizarea diferitor substanţe active (ulei volatil, mucilagiu, heterozide, alcaloizi, substanţe tanante etc.) în produsul vegetal.
16. Stabilirea purităţii produselor vegetale.
17. Determinarea calităţii produselor vegetale.
18. Documentaţia analitică de normare a produselor vegetale.

Produse vegetale cu conţinut de glucide

1. Definiţia glucidelor.
2. Ce specii de nalbă servesc ca sursă de produs vegetal (rădăcini şi frunze)?
3. Caractere macroscopice pentru identificarea rădăcinii de nalbă-mare?
4. Care reactiv aplicat pe suprafaţa rădăcinii de nalbă poate demonstra prezenţa mucilagiului? Care este rezultatul acestei reacţii?
5. Caracteristicile fracturii rădăcinii de nalbă-mare?
6. Cum se poate dovedi prezenţa mucilagiilor în produsul vegetal în lipsa reactivilor speciali?
7. În care ţesut al rădăcinii de nalbă sunt dislocate celulele cu mucilagii? Prin ce se deosebesc ele de celulele ce le înconjoară?
8. Reacţii microchimice prin care se apreciază calitatea rădăcinii de nalbă?
9. De ce suprafaţa seminţelor de in este lunecoasă?
10. Calitatea bună a seminţelor de in se poate stabili după caracterele macroscopice?
11. Care strat al spermodermei seminţei de in are rol important în stabilirea identităţii?
12. Ce formă au celulele mecanice din sământa de in?
13. Ce formă au tuberculii de salep?
14. Surse de obţinere a tuberculilor de salep.
15. De ce tuberculii de salep în produsul vegetal sunt foarte tari, corniformi?

16. Caracterele diagnostice ale pulberii tuberculilor de salep.
17. Sursele de produs vegetal *Laminariae stipites*.
18. Ce prezintă depunerile albe pe filoidul laminariei? Poate fi folosit produsul vegetal în acest caz?
19. Care sunt impurificările posibile la produsul vegetal de podbal?
20. Caractere macroscopice de identificare a produsului vegetal de pătlagină?
21. Cum se pregătește micropreparatul superficial din frunza de pătlagină?
22. Tipul perilor specifici frunzelor de pătlagină.
23. Reacțiile principale de identifitare a mucegiului.
24. Reactivul specific pentru identificarea amidonului.
25. Reacții specifice pentru identificarea elementelor lignificate?
26. Descrieți reacția cu fluoroglucina. Care este rezultatul ei?
27. Care este rezultatul reacției pentru pereții lignificați în preparatul rădăcinii de nalbă?
28. Cum se aplică reacția de colorare dublă?

Produse vegetale cu conținut de vitamine

1. Definiția vitaminelor.
2. Clasificarea vitaminelor.
3. Proprietăți fizico-chimice ale vitaminei C și carotenoidelor.
4. Plante bogate în vitamina C și carotenoide.
5. Metodele de identificare a vitaminei C și a carotenoidelor în produsul vegetal.
6. Determinarea cantitativă a vitaminei C și a carotenoidelor.
7. De la care specii din genul *Rosa* este admisă recoltarea fructelor de măceș conform FS?
8. După care caractere macroscopice se deosebesc fructele de măceș cu conținut sporit și redus de vitamina C?
9. Numiți caracterele diagnostice ale pulberii fructelor de măceș (în micropreparat).
10. Caractere macroscopice specifice frunzelor de urzică-mare.
11. Care impurificări sunt posibile în produsul vegetal de urzică-mare? Caracterele de identificare.
12. Ce prezintă cistolitele? În micropreparatul cărei plante se întâlnesc acestea?
13. Tipurile de perișori specifici frunzei de urzică-mare.
14. Caracterele macroscopice ale produsului vegetal de ciuboțica-cucului.
15. Se pot identifica frunzele de ciuboțica-cucului doar după tipul de peri?
16. Caracterele macroscopice ale fructelor de coacăz-negru.
17. Se schimbă forma și culoarea fructelor de scoruș la uscare în comparație cu cele proaspete?
18. Fructul la cătină-albă. Denumirea în limba latină a plantei producătoare și a produsului vegetal.
19. Structura inflorescenței la gălbenele.
20. Care produs vegetal de gălbenele este mai prețios din punct de vedere medicinal: cu florile portocalii sau galbene?
21. Ce prezintă mătasea de porumb? Care sunt caracterele morfologice ale acestui produs vegetal?
22. Caracterele macroscopice de identificare a scoarței de călin.

23. Care reacție poate fi folosită la identificarea scoarței de călin?
24. Care caractere microscopice ale scoarței de călin au însemnătate diagnostică?
25. Din care părți ale plantei constă *Bursae pastoris herba*?
26. Ce caracter microscopic specific plantelor din familia Brassicaceae se observă la frunza de traista-ciobanului?
27. Caracterele macroscopice ale părților aeriene de dentiță.
28. Caracteristica nervațiunii și perilor la frunza de dentiță.
29. Caracterele macroscopice pentru produsul vegetal de albumeală.
30. Ce impurificări însoțesc părțile aeriene de albumeală?

Produse vegetale cu conținut de uleiuri volatile

1. Definiția uleiurilor volatile.
2. Clasificarea uleiurilor volatile (exemple de formule din fiecare grupă).
3. Proprietățile fizice ale uleiurilor volatile.
4. Ce prezintă stearoptena (exemple de formule)?
5. Care indici numerici se determină în scopul stabilirii autenticității și calității uleiurilor volatile?
6. Cum se determină în uleiul volatil impuritățile de alcool, ulei gras?
7. Familiile cu specii de plante bogate în uleiuri volatile.
8. Structuri secretoare de ulei volatil la plantele din familiile Asteraceae, Lamiaceae, Apiaceae, Rozaceae etc.
9. Condițiile de uscare și de păstrare a produsului vegetal cu conținut de ulei volatil.
10. Întrebuințarea produsului vegetal eterooleaginos.
11. Metode de obținere a uleiului volatil din produsul vegetal.
12. Esența metodelor de determinare cantitativă a uleiului volatil după FS. Pentru care tipuri de produs vegetal determinarea cantitativă a uleiului volatil se efectuează prin metoda 2b (FS).
13. Construcția recipientului în aparatele pentru determinarea cantitativă a uleiului volatil.
14. Metode de determinare cantitativă a uleiului volatil și identificarea componenților lui.
15. Formulele componenților uleiului volatil: linalool, mentol, cineol, timol, anetol, tuionă, tuiol, camforă, borneol, bornilizovalerianat, hamazulenă, matricină, pinen. Exemple de plante în care sunt prezente (denumirile în limba latină, română).
16. Tipul fructului plantelor din familia Apiaceae?
17. După care caractere macroscopice se deosebește fructul de coriandru de alte specii ale familiei Apiaceae?
18. Cum putem deosebi fructele de coriandru mature de cele imature? Gradul de maturitate al fructului prezintă importanță la aprecierea calității produsului vegetal?
19. Câte canale cu ulei volatil au fructele de coriandru? Unde sunt amplasate?
20. Prezintă importanță la identificarea produsului vegetal de izmă-bună (mentă) marginea frunzei? Prin ce este caracteristică?
21. Ce structură au glandele cu ulei volatil în frunzele de izmă-bună (mentă)?
22. Ce nervație are frunza de jaleș (salvie)?
23. Prin ce se caracterizează forma și marginea frunzei de jaleș (salvie)?
24. De ce la identificarea produsului vegetal de eucalipt trebuie analizată frunza prin transparență?

25. De ce în produsul vegetal frunzele de eucalipt sunt diferite după formă?
26. Unde se localizează uleiul volatil în frunzele de eucalipt?
27. Ce reactivi se folosesc pentru colorarea uleiului volatil în preparate microscopice?
28. Care este consecutivitatea producerii reacției microchimice la uleiul volatil cu sudan III? Care este rezultatul?
29. Cum se pregătește miropreparatul superficial din frunze?
30. Enumerați caracterele macroscopice ale fructelor de chimen.
31. În ce structuri secretoare se localizează uleiul volatil în fructele plantelor din familia Apiaceae?
32. Tipul fructului la ienupăr și deosebirile de fructul altor conifere.
33. După care caractere macroscopice se poate identifica produsul vegetal de odolean?
34. Structura anatomică a rădăcinii de odolean depinde de diametrul acesteia?
35. De ce celulele hipodermei în rădăcina de odolean prezintă importanță diagnostică la analiza microscopică a produsului vegetal?
36. Ce caractere microscopice comune au fructele de fenicul, anason și coriandru?
37. Care este produsul vegetal la sovârv?
38. După care caractere macroscopice se deosebesc frunzele de mentă și sovârv?
39. De care la studierea caracterelor macroscopice ale produsului vegetal de mușetel trebuie examinată inflorescența în secțiune transversală?
40. După ce caracter macroscopic (cel mai caracteristic) mușețelul se deosebește de impurificări?
41. Care specie de mușețel este medicinală?
42. Care reactii microchimice trebuie efectuate pentru identificarea produsului vegetal de iarbă-mare?
43. De ce în micropreparatul rădăcinii de iarbă-mare ușor este identificat uleiul volatil? Care este tipul structurilor secretoare?
44. După care caractere macroscopice se deosebesc părțile aeriene de cimbru și cimbrișor? De ce este important de a nu fi confundate?
45. După care tip de peri se deosebește în micropreparat frunza de cimbru de frunza de cimbrișor?
46. Fructele de anason și fenicul se deosebesc după numărul și dimensiunile canalelor secretoare?
47. Ce prezintă „celulele cu îngroșări reticulare" în fructele de fenicul? Unde se localizează?
48. Care este cel mai caracteristic caracter macroscopic al produsului vegetal de arnică?
49. Ce structură epidermală specifică este proprie multor plante din familia Lamiaceae?
50. Din ce constă produsul vegetal de piretru?
51. Care sunt caracterele diagnostice principale ale pulberii de piretru?

Produse vegetale cu conținut de substanțe amare

1. Din ce părți ale plantei constă produsul vegetal de pelin-amar?
2. Caractere macroscopice de identificare a parților aeriene de pelin.
3. Prin ce se caracterizează perii în formă de litera „T" pe frunzele de pelin?
4. Se deosebesc după structură și dimensiuni glandele cu ulei volatil ale frunzelor de coada-șoricelului și pelin?
5. Ce caractere comune au glandele cu ulei volatil ale plantelor din familia Asteraceae?

6. Care este structura perilor la planta coada-şoricelului? Întotdeauna sunt asemănători aceştia în micropreparat?
7. Care este culoarea suprafeţei şi în fractură proaspată a rizomilor de obligeană? De ce depinde schimbarea culorii?
8. Ce elemente anatomice se pot observa în rizomul de obligeană la studierea cu lupa?
9. Care este structura ţesutului de bază în rizomul de obligeană? Cauza acestei particularităţi.
10. Poate fi observat uleiul volatil în rizomul de obligeană fără colorarea cu sudan III? Unde este localizat?
11. Cum este fractura rădăcinii de păpădie (netedă, fibroasă, aşchioasă)? Ce observăm în partea peridermei la examinarea cu lupa?
12. Care este culoarea şi caracterul suprafeţei (neted, rugos, increţit) produsului vegetal de păpădie?
13. Care este substanţa nutritivă de rezervă în rădăcina de păpădie? Reacţiile microchimice pentru identificare.
14. Uleiul volatil obţinut din coada-şoricelului este de culoare albastră (azuleni). De ce glandele cu ulei volatil în microprepat nu sunt colorate?
15. În care ţesut al rădăcinii de păpădie se află laticiferele şi cum sunt dispuse?
16. Care reacţii microchimice se folosesc la identificarea laticiferelor? Rezultatul lor.
17. După care caractere se poate identifica produsul vegetal de trifoişte?
18. Este necesară examinarea ambelor feţe ale frunzei la identificarea trifoiştei în micropreparat? De ce?
19. De ce ţesutul lacunar al trifoiştei are caracter de aerenchim?
20. Ce culoare au florile de centaură? Culoarea lor prezintă importanţă pentru identificarea şi aprecierea calităţii produsului vegetal?
21. Inulina în micropreparat are aspectul unor cristale sferice regulate sau a unor blocuri de diferite forme? De ce depinde aceasta?
22. Cum se identifică substanţele amare în produsul vegetal?

Produse vegetale cu conţinut de heterozide cardiotonice

1. Definiţia heterozidelor cardiotonice.
2. Clasificarea heterozidelor cardiotonice. Explicaţi pe ce principiu se bazează şi prezentaţi exemple de formule pentru fiecare grupă.
3. Caracteristica heterozidelor cardiotonice din genul Digitalis.
4. Caracteristica heterozidelor cardiotonice din genul Strofanthus.
5. Caracteristica catenei glucidice.
6. Corelaţia dintre componenţa chimică şi proprietăţile biologice ale heterozidelor cardiotonice.
7. Familii de plante bogate în heterozide cardiotonice.
8. Condiţiile de uscare a produsului vegetal cu conţinut de heterozide cardiotonice.
9. Proprietăţile fizico-chimice ale heterozidelor cardiotonice.
10. Reacţiile pentru catena glucidică a moleculei heterozidelor cardiotonice.
11. Reacţiile pentru ciclul steroic.
12. Reacţiile pentru inelul lactonic nesaturat.
13. Metodele de determinare cantitativă a heterozidelor cardiotonice.
14. Metodele biologice de determinare a heterozidelor cardiotonice.

15. Determinarea 1 UA.
16. Noțiunea de „valor" al produsului vegetal.
17. Etapele principale de extragere a heterozidelor cardiotonice din produsul vegetal.
18. Formulele lanatozidelor A, B, C, convalozidei, convalotoxinei.
19. Pe ce se bazează determinarea cantitativă a lanatozidelor în frunzele de degețel-lânos? Etapele principale.
20. Caractere macroscopice comune ale produselor vegetale de degețel-galben, lânos, feruginiu și ciliat; prin ce se deosebesc de degețelul-roșu?
21. Caracteristica pețiolului frunzei de degețel. De ce la frunzele mari din produsul vegetal el lipsește?
22. Poate fi diferențiait produsul vegetal de degețel-roșu și ciliat de alte specii după marginea frunzei?
23. De ce degețelul-lânos a fost denumit astfel deși în produsul vegetal frunza fiind glabră?
24. Ce tipuri de peri tectori se observă pe frunzele de degețel-roșu? Care tip predomină?
25. Numiți particularitățile structurale ale epidermei degețelului-lânos și celui ciliat.
26. Ce tip de peri tectori predomină pe frunzele de degețel-lânos? Care sunt caracteristicile?
27. Care tipuri de produse vegetale din lăcrămioară prevede FS?
28. Ce plante producătoare servesc ca surse de produs vegetal al lăcrămioarei?
29. Caractere macroscopice pentru identificarea frunzelor de lăcrămioară.
30. Particularitățile structurale ale mezofilului frunzei de lăcrămioară.
31. Care este specificul epidermei frunzelor de lăcrămioară?
32. Din ce părti ale plantei constă produsul vegetal al rușcuței-de-primăvară? Ce prevede FS sub acest aspect?
33. Cum trebuie pregătit micropreparatul frunzei de rușcuță-de-primăvară pentru a păstra în el toate caracterele diagnostice?
34. Prin ce se caracterizează epiderma frunzei de rușcuță-de-primăvară?
35. Din care părți ale plantei este format produsul vegetal de mixandre?
36. Ce caractere specifice familiei se pot observa în micropreparatul frunzei de mixandre?

Produse vegetale cu conținut de saponozide

1. Definiția saponinelor.
2. Clasificarea saponinelor. Exemple de formule pentru fiecare grupă.
3. Caracteristica componentului glucidic.
4. Proprietățile fizice ale saponinelor.
5. Proprietățile chimice de bază ale saponinelor.
6. Metodele de extracție a saponinelor din produsul vegetal.
7. Pe ce este bazată determinarea acidului glicirizinic din rădăcina de lemn-dulce?
8. Pe ce este bazată determinarea saponinelor în rizomi și rădăcină de *Dioscorea batatas*?
9. Formulele diosgeninei, acidului glicirizinic, aralozidelor A, B, C.
10. Care plante producătoare sunt incluse în FS ca surse de rădăcină de lemn-dulce?
11. Ce tipuri de rădăcini de lemn-dulce se admit de FS pentru întrebuințarea în medicină?

12. Care părți ale organelor subterane de lemn-dulce se folosesc ca produs vegetal?
13. După care caracter macroscopic și probă organoleptică se identifică ușor produsul vegetal de lemn-dulce?
14. Ce importanță prezintă pentru analiza microscopică a rădăcinii de lemn-dulce liberul? Prin ce se caracterizează acesta?
15. Care elemente mecanice se întâlnesc în rădăcina de lemn-dulce?
16. Prin ce se caracterizează vasele conducătoare ale rădăcinii de lemn-dulce?
17. Care este rezultatul reacției microchimice de identificare a elementelor lignificate în rădăcina de lemn-dulce?
18. Cum se numește produsul vegetal de scara-domnului? Care sunt caracterele morfologice?
19. Tipul structurii rădăcinii de scara-domnului (micropreparatul secțiunii transversale). Care sunt caracterele diagnostice ale acestora?
20. Ce reprezintă produsul vegetal de coada-calului? Prin ce particularități se deosebește de alte specii ale acestui gen?
21. Care parte a plantei de ortosifon se folosește ca produs vegetal?
22. Care sunt caracterele morfologice ale ortosifonului (forma, marginea frunzei, culoarea)?
23. Numiți particularitățile microscopice ale frunzei de ortositon cu importanță diagnostică.
24. De ce rădăcina de ginseng se numește „rădăcină-om"?
25. Ce caractere anatomice prezintă importanță la identificarea rădăcinii de ginseng?
26. Care sunt caracterele macroscopice ale rădăcinii de aralie?
27. Cum se numește produsul vegetal de echinopanax? Care sunt caracterele morfologice?
28. Ce se folosește în calitate de produs vegetal la eleuterococ?
29. Care plante producătoare servesc ca sursă de produs vegetal la dioscoree?
30. Care sunt caracterele morfologice ale produsului vegetal de dioscoree?
31. Ce prezintă reacția de formare a spumei?
32. Cum se efectuează reacția de formare a spumei cu produsul vegetal de scara-domnului? Care sunt rezultatele ei?
33. Care sunt metodele de identificare a saponinelor în produsul vegetal?
34. Ce înseamnă „număr spumar" sau „indice de spumificare"?

Produse vegetale cu conținut de tioheterozide, fenolheterozide, floroglucide și lignane

1. Proprietățile fizico-chimice ale compușilor fenolici.
2. Reacțiile calitative pentru arbutină și floroglucide.
3. Analiza cromatografică.
4. Reacțiile calitative pentru compușii fenolici.
5. Metodele de determinare cantitativă a floroglucidelor și fenolheterozidelor în produsul vegetal.
6. Numiți speciile de muștar folosite pentru obținerea produsului vegetal?
7. Care sunt caracterele macroscopice ale semințelor de muștar; dimensiunile, culoarea, mirosul, gustul?
8. Cui se datorează gustul iute al semințelor de muștar?

9. După care caractere se apreciază calitatea semințelor de muștar?
10. Cum se efectuează secțiunea transversală prin sămânța de muștar pentru micropreparat?
11. Care component structural al seminței de muștar are importanță diagnostică în micropreparat?
12. Prin ce reacții se poate identifica prezenfa mucilagiului în sămânța de muștar?
13. Care plante conțin fenolheterozide (denumirile în limba română și latină)?
14. Caracterele macroscopice ale frunzei de strugurii-ursului.
15. Ce impurificări pot fi la frunzele de strugurii-ursului? Caracterele principale după care le putem deosebi.
16. Prin ce reacții se identifică prezența substanțelor tanante în frunzele de strugurii-ursului? Care sunt rezultatele acestor reacții?
17. Cum se identifică arbutozida în produsul vegetal (de exemplu, în frunzele de strugurii-ursului, merișor)?
18. Prin ce caractere macroscopice se caracterizează frunza de merișor?
19. Prin ce se caracterizează epiderma inferioară a frunzei de merișor?
20. Care specii de trei-frați-pătați se folosesc în calitate de produs vegetal?
21. Care sunt caracterele macroscopice ale produsului vegetal de trei-frați-pătați?
22. Care produse vegetale, provenite de la lămâiul-chinezesc, sunt incluse în FS?
23. Ce caractere morfologice sunt specifice fructelor de lămâi-chinezesc?
24. Care sunt caracterele morfologice specifice semințelor de lămâi-chinezesc?
25. Caractere microscopice pentru identificarea lămâiului-chinezesc.
26. Care este rezultatul reacției microchimice cu sudan III la analiza semințelor de lămâi-chinezesc?
27. Care parte a plantei de rodiolă se folosește ca produs vegetal?
28. Care sunt caracterele macroscopice ale produsului vegetal de rodiolă?
29. De ce produsul vegetal de rodiolă se numește „rădăcina de aur"?
30. Ce este caracteristic pentru structura anatomică a rizomului de rodiolă?
31. Scrieți denumirile produsului vegetal, plantei producătoare și familiei plantei de rodiolă în limba latină.

Produse vegetale cu conținut de alcaloizi

1. Care compuși naturali se numesc alcaloizi (definiția)?
2. Clasificarea alcaloizilor (exemple de alcaloizi din fiecare grupă, formula lor și denumirea plantelor ce conțin acești alcaloizi).
3. Proprietățile fizico-chimice ale alcaloizilor.
4. În ce formă se află alcaloizii în produsul vegetal?
5. Localizarea alcaloizilor.
6. Reactii calitative pentru identificarea alcaloizilor.
7. Analiza cromatografică.
8. Extragerea alcaloizilor din produsul vegetal și purificarea extractelor.
9. Separarea totalului de alcaloizi.
10. Ce proprietăți stau la baza metodelor determinării cantitative a alcaloizilor în produsul vegetal?
11. Esența metodelor determinării cantitative a alcaloizilor în produsul vegetal (formulele și denumirea plantelor ce conțin acești alcaloizi).

12. Cum se efectuează reacţia microchimică la alcaloizi?
13. Din care părţi ale plantei constă *Thermopsidis herba*?
14. Ce indică FS privind conţinutul de fructe imature în părţile aeriene de linte-lanceolată? De ce se atrage atenţia asupra acestui moment?
15. De ce părţile aeriene ale lintei-lanceolate au culoare verde-cenuşie? Sunt asemănătoare după culoare ambele feţe ale frunzei?
16. Ce tip de peri se întâlnesc în preparatul frunzei de linte-lanceolată şi prin ce se caracterizează?
17. Cum trebuie pregătit preparatul frunzei de linte-lanceolată pentru a observa cristalele termosilancinei? În care ţesuturi se găsesc acestea?
18. Care produse vegetale ale mătrăgunei se folosesc în medicină?
19. Ce plante producătoare sunt incluse în FS ca surse de produse vegetale ale mătrăgunei?
20. De ce în produsul vegetal al mătrăgunei frunzele se deosebesc esenţial după dimensiuni?
21. Este important ca frunzele să fie cu peţiol în produsul vegetal de mătrăgună?
22. Enumeraţi caracterele microscopice ale frunzei de mătrăgună în micropreparat.
23. Caracterele macroscopice de identificare a rădăcinii de mătrăgună?
24. Din care părţi ale plantei constă produsul vegetal *Belladonnae herba*?
25. Ce caracter diagnostic este foarte important la determinarea identităţii rădăcinii de mătrăgună?
26. După care caractere macroscopice se poate identifica frunza de măselariţă. La ce trebuie de atras atenţia?
27. Frunzele de măselariţă au cristale de oxalat de calciu de diferite forme. Care dintre acestea sunt caracteristice produsului vegetal?
28. Prin ce caractere macroscopice se deosebesc frunzele de laur de cele de măselăriţă?
29. Ce tip de peri şi cristale de oxalat de calciusunt specifici frunzelor de laur?
30. Caracterele macroscopice ale produsului vegetal de nufăr-galben.
31. Caracterele microscopice ale produsului vegetal de nufăr-galben.
32. Caracteristica marginii frunzei de drăcilă.
33. Caracterele macroscopice specifice părţilor aeriene de rostopască.
34. Elementele structurale caracteristice frunzei de rostopască în micropreparat.
35. Tipul şi caracteristica fructului la macul-de-grădină?
36. Culoarea cornului-de-secară la suprafaţă şi în fractură?
37. Ce reacţii microchimice se pot folosi la identificarea cornului-de-secară?
38. Care părţi ale plantei formează *Passiflorae herba*?
39. Ce caractere microscopice ale frunzei de pasifloră sunt specifice pentru identificarea produsului vegetal?
40. Caractere macroscopice ale produsului vegetal de strigoaie?
41. Caractere microscopice ale rădăcinii de strigoaie?
42. Caractere macroscopice specifice rădăcinii de drăcilă.
43. Descrieţi caracterul fluorescenţei rădăcinii de drăcilă în lumina ultravioletă. De ce este determinată fluorescenţa rădăcinii?

Produse vegetale cu conținut de cumarine și furanocromone

1. Definiția contemporană a cumarinelor.
2. Clasificarea cumarinelor.
3. Proprietăți fizico-chimice ale cumarinelor.
4. Identificarea cumarinelor în produsul vegetal.
5. Cum se extrag cumarinele din produsul vegetal?
6. Cum se separă totalul cumarinelor în componenți?
7. Ce proprietăți ale cumarinelor stau la baza metodelor determinării cantitative a cumarinelor în produsul vegetal: a) de neutralizare; b) cromatocolorimetrice; c) cromatospectrofotometrice; d) polarografice; e) cromatofluorimetrice?
8. Care sunt particularitățile morfologice generale ale plantelor din familia Apiaceae?
9. După ce caractere macroscopice se deosebesc frunzele de ami?
10. Care plantă producătoare este sursa produsului vegetal de păstârnac?
11. Care sunt particularitățile morfologice ale fructului de păstârnac?
12. Ce caractere diagnostice sunt specifice pentru fructul de păstârnac în micropreparat?
13. Din care părți ale plantei constă produsul vegetal de sulfină?
14. La analiza microscopică a frunzei de sulfină se atrage atenția la nervuri. De ce?
15. Ce tip de peri sunt caracteristici pentru frunza de sulfină?
16. Care specii de peucedan se folosesc pentru obținerea produsului vegetal? Numiți plantele și produsul vegetal în limba latină.
17. Care sunt caracterele macroscopice ale mericarpului de mărar?
18. Ce fel de fluorescență au compușii cumarinici în lumina ultravioletă?
19. Prin ce reacții se pot identifica cumarinele în produsul vegetal?

Produse vegetale cu conținut de antraheterozide

1. Care substanțe naturale se numesc derivați ai antracenului?
2. Ce stă la baza clasificării derivaților antracenului? În câte grupe se împart?
3. Sub ce formă derivații antracenului sunt prezenți în plante?
4. Prin ce reacții se pot identifica derivații antracenului în produsul vegetal?
5. Ce se petrece cu derivații antracenului și heterozidele lor la încălzirea produsului vegetal?
6. Prin ce se explică solubilitatea derivaților antracenilor liberi în soluții apoase de bază?
7. Care proprietate a derivaților antracenului se poate folosi pentru stabilirea localizării lor în țesuturile plantelor?
8. Prin ce proprietăți fizico-chimice se caracterizează derivații liberi ai antracenului și heterozidele lor?
9. În ce constă esența metodei cantitative de determinare a derivaților antracenului în produsul vegetal?
10. Care reacții se pot folosi pentru revelarea pe cromatograme a derivaților antracenului?
11. Care este culoarea suprafaței interne a scoarței de crușin? De ce este condiționată?
12. Impurificările scoarței de crușin se pot determina după un caracter; care este acesta?
13. Care sunt cele două tipuri de fibre mecanice ce pot fi observate în micropreparaful scoarței de crușin?

14. Care este tipul fructului de verigariu? Prin ce caractere macroscopice se caracterizează?
15. Fructele cărei plante sunt inadmisibile ca impuritate a fructelor de verigariu? De ce?
16. Ce reacție se folosește la identificarea conținutului antraheterozidelor din fructele de verigariu?
17. De ce rădăcina de revent în fractură este neomogenă, pestriță?
18. De ce rădăcina de revent la mestecare scârție între dinți?
19. Ce caracter macroscopic al rădăcinii de revent este foarte specific în pulbere?
20. Prin ce se caracterizează granulele de amidon ale rădăcinii de revent?
21. Care caractere microscopice ale rădăcinii de revent prezintă importanță pentru identificare?
22. Ce servește drept produs vegetal la speciile de siminichie?
23. Numiți caracterele macroscopice caracteristice produsului vegetal de siminichie.
24. Există deosebiri în structura epidermei superioare și celei inferioare ale frunzei de siminichie?
25. Prin ce se caracterizează nervurile frunzei de siminichie (în micropreparat)?
26. Care sunt cele două tipuri de cristale de oxalat de calciu prezente în frunzele de siminichie?
27. De ce planta se numește *Hypericum perforatum*?
28. Prin ce se caracterizează tulpina și aranjarea frunzelor la sunătoare?
29. Ce plante sunt indicate în FS ca impurități posibile ale părților aeriene de sunătoare?
30. Ce fel de pungi se observă în micropreparatul frunzei de sunătoare?
31. Care este particularitatea structurii epidermei frunzei de sunătoare?
32. Cum se numește produsul vegetal de roibă? Prin ce caractere macroscopice se caracterizează?
33. Prin ce se caracterizează fractura rădăcinii de roibă?
34. Ce cristale se observă în micropreparatul rădăcinii de roibă?
35. Ce reacție microchimică se poate folosi pentru stabilirea localizării derivaților atracenului în produsul vegetal?
36. Ce reacții generale există pentru identificarea derivaților antracenului în produsul vegetal?
37. Care este rezultatul analizei produsului vegetal cu conținut de derivați ai antracenului în micropreparatul luminescent (de exemplu, în rădăcinile de roibă, revent, scoarța de crușin etc.)?
38. Care sunt rezultatele microsublimării produsului vegetat cu conținut de derivați ai antracenului?

Produse vegetale cu conținut de flavonoide

1. Ce prezintă flavonoidele?
2. Clasificarea flavonoidelor. Formulele.
3. Răspândirea flavonoidelor în lumea vegetală.
4. Localizarea flavonoidelor în plante.
5. Proprietățile fizico-chimice ale flavonoidelor.
6. Metodele de extracție a flavonoidelor din produsul vegetal.

7. Reacțiile calitative la flavonoide.
8. Analiza cromatografică.
9. Metoda de determinare cantitativă a flavonoidelor în produsul vegetal.
10. Care produse vegetale de păducel sunt indicate în FS?
11. Care plante producătoare servesc drept surse de produse vegetale ale păducelului?
12. După care particularități morfologice se identifică fructele de păducel?
13. Care sunt caracterele macroscopice ale florilor de păducel?
14. Particularitățile inflorescențelor de vetrice.
15. Enumerați caracterele morfologice generale ale plantelor din familia *Polygonaceae*.
16. Care specii din genul *Polygonum* pot fi ca impurificări la părțile aeriene de piperul-bălții?
17. Prin ce se deosebesc inflorescențele de piperul-bălții de alte specii?
18. De ce planta se numește „piperul bălții" sau „iarbă-iute"?
19. Iarba-roșie prezintă niște pete antocianice întunecate pe frunze. Acestea se păstrează și în produsul vegetal?
20. Prin ce caractere macroscopice se caracterizează părțile aeriene de troscot?
21. Descrieți caracterele microscopice generale ale plantelor din familia Polygonaceae.
22. Care sunt caracterele microscopice distinctive ale piperului-bălții, ierbii-roșii și troscotului?
23. De ce planta se numește „imortelă"?
24. Prin ce se caracterizează culoarea, mirosul produsului vegetal de siminoc?
25. Numiți caracterele macroscopice ale inflorescențelor de siminoc (imortelă).
26. Prin ce se caracterizează părțile aeriene de coșaci?
27. După care caractere ale părților aeriene de coșaci se poate demonstra apartenența plantei la familia Fabaceae?
28. Ce tip de peri sunt caracteristici frunzei de coșaci?
29. Care sunt particularitățile morfologice ale fructului de aronie?
30. Care părți ale plantei sunt prezente în produsul vegetal de talpa-gâștei?
31. Ce plante indică FS ca impurificări posibile la talpa-gâștei?
32. Ce plante producătoare sunt admise de FS la colectarea produsului vegetal de talpa-gâștei?
33. După care caractere macroscopice se poate aprecia calitatea părții aeriene de talpa-gâștii?
34. Prin ce caractere microscopice se deosebește frunza de talpa-gâștei de frunzele altor reprezentanți din familia Lamiaceae?
35. Cum se numește produsul vegetal de osul-iepurelui? Care sunt caracterele lui macroscopice?
36. Prin ce se caracterizează rădăcina de osul-iepurelui privită la microscop?
37. Care sunt particularitățile macroscopice ale produsului vegetal de gura-lupului?
38. Identificarea flavonoidelor în produsul vegetal.
39. Cum fluorescează flavonoidele în lumina ultravioletă?
40. Numiți caracterele microscopice proprii fructele de păducel.
41. Ce tipuri de cristale conțin fructelor de păducel?
42. După ce caractere microscopice se pot identifica florile de păducel?

Produse vegetale cu conținut de substanțe tanante

1. Definiția substanțelor tanante.
2. Clasificarea substanțelor tanante.
3. Proprietățile fizico-chimice ale substanțelor tanante.
4. Localizarea substanțelor tanante.
5. Metodele de extragere a substanțelor tanante din produsul vegetal, purificarea.
6. Reacțiile calitative ale substanțelor tanante.
7. Analiza cromatografică a substanțelor tanante.
8. Metoda determinării cantitative a substanțelor tanante în produsul vegetal.
9. De pe care organ al stejarului se recoltează scoarța în scop curativ?
10. După care caractere macroscopice se poate aprecia calitatea scoarței de stejar?
11. Prin ce se caracterizează fractura transversală a scoarței de stejar?
12. Prezența căror elemente anatomice determină coastele (muchiile) longitudinale ale suprafeței interne la scoarța de stejar?
13. Ce structuri mecanice se întâlnesc în scoarța de stejar?
14. Cum explicați faptul că de prezența zonei mecanice în scoarța de stejar depinde calitatea bună a produsului vegetal?
15. În ce ordine sunt dispuse elementele mecanice în scoarța de stejar (micropreparat al secțiunii transversale)?
16. Ce indicații sunt în FS privind impurificările posibile la scoarța de stejar?
17. De ce culoare trebuie să fie *Bistortae rhizomata* (răculeț) în fractură proaspătă?
18. Care este tipul fasciculelor conducătoare în rizomul de răculeț?
19. Care țesut este specific rizomului de răculeț?
20. Ce formă și culoare au rizomii de sclipeți?
21. Care este rezultatul reacției pulberii sau raclatului rizomului de sclipeți cu soluția de clorură ferică?
22. Care este produsul vegetal de sorbestrea? Caractere macroscopice de identificare.
23. Elementele mecanice ale rădăcinii de sorbestrea (micropreparat al secțiunii transversale) pot servi drept caracter de bază la identificarea produsului vegetal?
24. Prin care reacții se pot identifica fructele de afin?
25. Prin ce se caracterizeâză fructele de afin sub aspect macroscopic?
26. Care impurități sunt admisibile la fructele de afin?
27. Fructele căror plante sunt inadmisibile ca impurități ale fructelor de afin?
28. Numiți tipul fructului de mălin.
29. Depunerile albe de pe suprafața fructelor de mălin este un semn al calității proaste a produsului? Care este natura acestei substanțe?
30. Ce înseamnă fruct compus de conuri de arin? Care sunt principalele caractere macroscopice ale acestui produs vegetal?
31. Care este rezultatul reacției de interacțiune a produsului vegetal de sorbestrea cu soluția alaunilor de fier și amoniu?
32. De ce produsul vegetal cu conținut de substanțe tanante capătă la păstrare o culoare brună sau brună-închisă? Ce determină această schimbare?
33. Ce reacții generale se întrebuințează la identificarea produsului vegetal cu conținut de substanțe tanante?
34. Ce reactivi se folosesc pentru separarea substanțelor tanante în grupuri (hidrolizabile și nehidrolizabile)?

35. Ce reactivi se pot folosi la studierea localizării substanțelor tanante în țesuturile plantelor?
36. Ce metodă de determinare cantitativă a substanțelor tanante este inclusă în FS și pe ce se bazează?

Produse vegetale cu conținut de diverse principii active

1. Numiți tipul fructului la zmeur.
2. Caracterele macroscopice ale rădăcinii de leuzee.
3. Elementele structurale diagnostice în secțiunea transversală a rădăcinii de leuzee.
4. Substanța nutritivă în rădăcina de leuzee și reacțiile microchimice de identificare.
5. Ce înseamnă „iască"? Denumirea în limba latină a produsului vegetal și plantei producătoare.
6. Caracterele macroscopice principale ale băcăliei-de-mesteacăn.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Bojiţă M., Roman L., Săndulescu R., Oprean R. Analiza şi controlul medicamentelor. Vol.1. Bazele teoretice şi practice. Cluj Napoca: Ed. Intelcredo Deva, 2002.
2. Bojiţă M., Roman L., Săndulescu R., Oprean R. Analiza şi controlul medicamentelor. Vol.2. Metode instrumentale în analiza şi controlul medicamentelor. Cluj Napoca: Ed. Intelcredo Deva, 2003.
3. Bruneton J. Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes medicinales. 3ed edition. London: Londres TEC et DOC/EM INTER, 1999.
4. Ciulei L, Istudor V., Palade M., Albulescu D., Gard C. Analiza farmacognostică şi fitochimică a produselor vegetale. Vol. I. Bucureşti: Ed. Technoplast Company srl, 1995.
5. Calalb T., Bodrug M. Botanică farmaceutică. Chişinău: Firma editorial-poligrafică „Tipografia Centrală", 2009.
6. Ciulei L, Istudor V., Palade M., Niculete E., Gard C. Analiza farmacognostică şi fitochimică a produselor vegetale. Vol.II. Bucureşti: Ed. Technoplast Company SRL, 1995.
7. Dolgova A., Ladăghina E. Lucrări de laborator la farmacognozie. Trad. din limba rusă A. Nistreanu, G. Goreanu. Chişinău: Ed. Universitas, 1995.
8. Grigorescu E., Lazăr M., Stănescu U., Ciulei I. Index fitoterapeutic. Iaşi: Ed. Cantes, 2001.
9. Istudor V. Farmacognozie. Fitochimie. Fitoterapie. Vol I,II,III. Bucureşti: Ed. Medicală, 1998, 2001, 2005.
10. Ladăghina E., Safronici L., Otriaşencova V. et al. Analiza chimică a plantelor medicinale. Trad. din limba rusă A. Nistreanu, G. Goreanu. Chişinău: Ed.Universitas, 1993.
11. Nistreanu A. Farmacognozie. Chişinău: Firma editorial-poligrafică „Tipografia Centrală", 2001.
12. Oniga I. Farmacognozie. Alcaloizi. Cluj-Napoca: Ed. Medicală Universitară „Iuliu Haţieganu", 2001.
13. Oniga I., Benedec D., Hanganu D. Analiza produselor naturale medicinale. Cluj-Napoca: Ed. Medicală Universitară „Iuliu Haţieganu", 2004.
14. Oroian S. Botanică farmaceutică. Târgu Mureş: University Press, 2011.
15. Stănescu U., Miron A., Hâncianu M., Aprotosoaie C. Bazele farmaceutice, farmacologice şi chimice ale fitoterapiei. Vol.I, II. Iaşi: Ed „Gr.T.Popa", 2002.
16. Tămaş M. Botanică farmaceutică. Cluj-Napoca: Ed. Medicală Universitară „Iuliu Haţieganu", 1999.
17. Treas G.E., Evans W.C. Pharmacognosy. London: Baillier Tindall, 1989.
18. Farmacopeea Română, Ediţia a X-a. Bucureşti: Ed. Medicală, 1993.
19. European Pharmacopoeia, 7th Edition, Geneva, 2011.
20. Wagner H., Bladt S. Plant Drug Analysis. Second Edition: Springer-Verlag Berlin, Heidelberg New-York, 1996.
21. Государственная Фармакопея Республики Беларусь. Том I, II, III. Минск. 2006, 2007, 2009.
22. Государственная Фармакопея СССР. Выпуск 2. Москва: Медицина, 1990.
23. Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2013.

INDEX ALFABETIC CU DENUMIRILE PLANTELOR MEDICINALE ÎN LIMBA ROMÂNĂ

INDEX ALFABETIC CU DENUMIRILE PLANTELOR MEDICINALE ÎN LIMBA LATINĂ